

**Aus dem Institut für Normale und Pathologische
Physiologie**

Leiter: Prof. Dr. K.- H. Voigt

**Mechanismen der Migration
lymphoider Zellen nach einer
öffentlichen Rede**

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung des Doktorgrades in Humanbiologie an dem
Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg**

**vorgelegt von
Dr. Jürgen Hennig
aus Wuppertal**

Marburg, April 2000

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am

gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. Kern

Referent: Prof. Dr. Voigt

Korreferent: Prof. Dr. Renz

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. K.H. Voigt für seine Betreuung dieser Arbeit und seinen stimulierenden Einfluss auf mein Interesse an der Psychoneuroimmunologie danken. In vielen Gesprächen während aller Phasen des Experiments von der Planung bis zur Durchführung und Auswertung war er stets ein hilfsbereiter, interessierter und motivierender Ansprechpartner.

Mein Dank gilt auch Frau Prof. Dr. Dr. P. Netter, die nicht nur durch zahlreiche Diskussionen, sondern auch durch persönliches Engagement am Gelingen dieser Studie maßgeblich beteiligt war.

Ferner möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. J. Lohmeyer (Klinik für Innere Medizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen) für die Möglichkeit, flowzytometrische Bestimmungen durchzuführen und bei Frau Dipl. biol. P. Roth für die jeweiligen Analysen herzlich bedanken.

Auch Prof. Dr. N. Katz (Abteilung für Klinische Chemie, Klinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen) gebührt mein Dank für die Bestimmung von Katecholaminen.

Schließlich möchte ich erwähnen, dass ohne die Förderung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG; HE 2443/3-1) die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Inhalt

1.	Einleitung	1
1.1	Das Paradigma der öffentlichen Rede	3
1.1.1	Endokrine Effekte nach public speaking	8
1.1.2	Immunologische Veränderungen im Zuge des Paradigmas der öffentlichen Rede	11
1.2	Überleitung zur Fragestellung	20
2.	Methoden	25
2.1	Stichprobe	25
2.2	Versuchsplan	25
2.3.	Unabhängige Variablen	26
2.4	Abhängige Variablen	27
2.4.1	Subjektive Indikatoren psychischer Belastung	27
2.4.2	Biochemische Messungen	28
2.4.2.1	Differentialblutbild	28
2.4.2.2	Lymphozytentypisierung und Berechnung absoluter Zellzahlen	28
2.4.2.3	Cortisol	30
2.4.2.4	Noradrenalin und Adrenalin	30
2.5	Versuchsdurchführung	30
2.6	Statistische Verfahren	34
3.	Ergebnisse	36
4.	Diskussion	54
4.1	Vorbemerkung	54
4.2	Mechanismen der Lymphozytenmigration	55
4.3	Psychoneuroimmunologie und Lymphozytenmigration	68
5.	Zusammenfassung	83
6.	Literatur	84
7.	Anhang	100

1. Einleitung

Im Zuge psychoneuroimmunologischer (PNI) Forschung wurde deutlich, dass das Immunsystem in komplexer Wechselwirkung mit dem Zentralnervensystem steht und entgegen früheren Auffassungen keineswegs autonom funktioniert. Von entscheidender Bedeutung für die Mediatoren dieser Interaktionen ist nicht nur die Innervation lymphoider Organe, sondern auch das Vorhandensein spezifischer Rezeptoren für Hormone, Neuropeptide oder auch für Neurotransmitter auf lymphoiden Zellen. Diese Voraussetzungen geben die Grundlage für unterschiedliche Untersuchungsansätze im Tier- und Humanbereich, die in den letzten Jahren zu einem regen interdisziplinären Austausch zwischen Labor- und Verhaltenswissenschaften geführt haben.

Es kann und soll nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein, die verschiedenen Ansätze und Ergebnisse der PNI zusammenzufassen, zumal es für diesen Zweck geeignete Lehrbücher gibt (z.B. HENNIG, 1998; SCHEDLOWSKI & TEWES, 1996). Neben einer Fülle von möglichen Untersuchungsansätzen gestattet die Komplexität des Immunsystems auch die Einbeziehung einer nahezu unbegrenzten Auswahl von immunologischen Parametern. Diese Situation führt zu einer komplizierten Situation mit diversen Konsequenzen. Zum einen finden sich in der Literatur nur sehr begrenzt Replikationen, da mögliche Effekte hinsichtlich „neuer“ Parameter des Immunsystems grundsätzlich mehr Beachtung finden als die wiederholte Aufstellung von Befunden, die bereits bekannt sind (sofern eine Replikation gelungen ist). Zum anderen verführt die Bestimmbarkeit immunologischer Parameter zur Untersuchung komplexer Zusammenhänge innerhalb der Psychoneuroimmunologie, obwohl z.T. sehr grundlegende immunologische Funktionen oder die allgemeine Bedeutung von Veränderungen dieser oder jener Parameter nicht bekannt sind. Letztlich fehlt es auch heute noch mitunter an der Prüfung von Mechanismen immunologischer Veränderungen, obgleich die Arbeiten der letzten Jahre mehr und mehr über ein deskriptives Maß hinausgehen.

Die vorliegende Arbeit versucht, einigen dieser Schwierigkeiten in der Form zu begegnen, dass

1. Parameter des Immunsystems herangezogen werden, die nicht nur seit geraumer Zeit Gegenstand psychoneuroimmunologischer Forschung sind, sondern für die auch diverse und replizierte Befunde aus unterschiedlichen Untersuchungsansätzen vorliegen,
2. unter Verwendung einer hoch standardisierten Experimentalsituation eine Vergleichbarkeit (Replikation) mit bereits publizierten Arbeiten ermöglicht wird und
3. über einen korrelativen Ansatz hinaus Mechanismen immunologischer Veränderungen aufgedeckt werden sollen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Mechanismen psychoneuroimmunologischer Interaktionen mittels einer akuten Belastungssituation zu erfassen. In der Literatur liegen diverse Befunde hinsichtlich kurz- aber auch längerfristiger Belastung vor, die aber vielfach in Feldbedingungen oder wenig kontrollierten Laborexperimenten erhoben wurden. Es bedarf daher der Auswahl eines Stressors, der unter absolut standardisierten Laborbedingungen applizierbar ist, und zu dem bereits Befunde hinsichtlich der Wirkung auf objektive (z.B. Hormone oder immunologische Parameter) und subjektive (z.B. Befindlichkeit) Veränderungen vorliegen. Nur unter diesen Voraussetzungen können die o.g. drei Punkte gewinnbringend realisiert werden. Aus bisherigen Publikationen geht hervor, dass die Situation der öffentlichen Rede („public speaking“, PS) diese Voraussetzungen erfüllt.

In der Folge sollen daher grundsätzlich Charakteristika dieser Modellsituation und Forschungsparadigmen zur Erfassung spezifischer Reaktionen aufgestellt wer-

den, um danach aufzuzeigen, dass PS auch in Hinblick auf endokrinologische oder immunologische Parameter einen effizienten Stressor darstellt. Die Kenntnisse dieser psychobiologischen Veränderungen ermöglichen nicht nur die Replikation von Befunden, sondern auch die sich notwendigerweise anschließende Prüfung zugrunde liegender Mechanismen. Dies ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.

Zunächst werden grundsätzliche Aspekte der Belastungssituation "Öffentliche Rede" dargestellt, um danach auf psychobiologische Reaktionen im Rahmen dieser Situation einzugehen. Basierend auf dem derzeitigen Stand der Forschung werden in der Folge die entsprechenden Fragestellungen dieser Untersuchung aufgezeigt. Der sich anschließende Methodenteil soll dem Leser einen detaillierten Einblick in alle für die Durchführung der Studie notwendigen methodischen Voraussetzungen geben. Streng nach der Reihenfolge der Fragestellungen wird der Ergebnisteil gegliedert sein.

Aufgrund der Tatsache, dass dieser Arbeit die Frage nach zugrundeliegenden Mechanismen der Stress-induzierten Veränderung von Lymphozytenmigration zugrundeliegt, wird sich die Diskussion zunächst ausführlich mit grundsätzlichen Aspekten der Zellmigration befassen. Dies ist bewußt so gewählt worden, um einerseits eine Gesamtsicht von Zellmigrationsprozessen zu erleichtern und andererseits um die Einleitung nicht mit Aspekten zu "belasten", die erst im Zuge einer Diskussion von erhobenen Ergebnissen aufgegriffen werden sollten.

1.1 Das Paradigma der öffentlichen Rede

In verschiedenen Studien ist diese Belastungsbedingung hinsichtlich psychologischer und physiologischer Indikatoren als besonders wirksam herausgestellt worden (BOUCSEIN & WENDT-SUHL, 1980; DROPPLEMAN & MCNAIR, 1971; ERDMANN, JANKE & BISPING, 1984; ERDMANN & VOIGT, 1995; GEER, 1966). Den Probanden wird mitgeteilt, dass sie in wenigen Minuten eine öffentliche Rede halten sollen. Das Thema der Rede kann dabei variieren. So wurden z.B. Inhalte über das

Studium oder berufliche Absichten (ERDMANN, 1983; ERDMANN ET AL., 1984), die Simulation einer Bewerbungssituation (KIRSCHBAUM, PIRKE & HELLHAMMER, 1993) oder die Verwendung bestimmter standardisierter Texte, die es zu reduzieren oder elaborieren galt (Börgens, 1986), als Thema der öffentlichen Rede eingesetzt. Der Aspekt der Öffentlichkeit wird nun unterschiedlich operationalisiert:

- a) Die Rede mit Publikumsöffentlichkeit besteht in der Bedingung, dass entweder real ein Publikum mit im Raum sitzt (z.B. KIRSCHBAUM, ET AL., 1993) oder über die Einspielung eines Videobandes simuliert wird (z.B. ERDMANN, ET AL., 1984).
- b) Die Rede mit Videoöffentlichkeit beinhaltet die Bedingung, dass ein mit der Rede aufgezeichnetes Videoband später einem Gremium von Gutachtern vorgespielt wird, ohne dass das Publikum für den Probanden sichtbar ist.

Der Unterschied in den beiden Bedingungen ist also entweder die reale, respektive simulierte Anwesenheit eines Publikums oder die spätere Vorführung der Rede vor einem Publikum, welches aktuell nicht anwesend ist. Beide Variationen lösen sehr deutliche Stressantworten aus, wobei die Anwesenheit des Publikums, sei es nun simuliert oder real, zu deutlicheren Reaktionen führt als die Bedingung der Videoöffentlichkeit (ERDMANN ET AL., 1984). Hinsichtlich des zeitlichen Ablaufs der Situation lassen sich klar zwei Phasen dieser Stressbedingung differenzieren:

Antizipationsphase und Redephase.

In der Antizipationsphase können bereits deutliche Belastungsreaktionen erfasst werden, so dass einige Autoren auf die eigentliche Redephase sogar verzichtet haben (BAUMANN, 1992; BÖRGENS, 1986). In der Literatur wird auf die mögliche

Dissoziierbarkeit von kognitiver und emotionaler Beanspruchung innerhalb der Antizipationsphase hingewiesen. Da die Situation durch eine Leistungsbeanspruchung einerseits und eine Komponente der Angst andererseits gekennzeichnet ist (komplexer Stressor, siehe z.B. BÖRGENS, 1986), kann durch die Bekanntgabe des Redethemas erst kurz vor Redebeginn (also im Anschluss an die Antizipationsphase) eine intensivere Angstbedingung geschaffen werden, als es im Gegensatz zur Bekanntgabe des Vortragsthemas zu Beginn der Antizipationsphase durch die Kombination von Angst und Leistungsbeanspruchung gelingt (BOUCSEIN & WENDT-SUHL, 1980). Dies ist insofern von Bedeutung, als sich die Situation, in der eine geistige Vorbereitung möglich war (Leistungsbeanspruchung), in erster Linie mit einer Erhöhung der Herzfrequenz und Aktivierung des sympathoadrenalen Systems verbindet (BAUMANN, 1992; BÖRGENS, 1986), während die reine Angstkomponente (Bekanntgabe des Themas unmittelbar vor Redebeginn), also der Ausschluss einer zusätzlichen Leistungsbeanspruchung während der Antizipationsphase, in erster Linie mit Änderungen der subjektiven Befindlichkeit und vor allem mit einer Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-nebennierenrindenachse (HHNR-Achse) assoziiert ist (ERDMANN & VOIGT, 1995). In einer sehr aufwendigen Studie gehen ERDMANN & BAUMANN (1996) der Frage nach, inwieweit

1. die Kenntnis des Themas zu Beginn der Antizipationsphase andere Effekte produziert, als wenn das Thema erst am Ende, sprich: unmittelbar vor der Rede, bekanntgegeben wird,
2. inwieweit dies mit der Intensität der Sprechangst kovariiert.

Die Intensität der Sprechangst ist verschiedentlich variiert worden, und es steht fest, dass sie in der Bedingung mit Publikumsöffentlichkeit stärker ausfällt als in derjenigen mit Videoöffentlichkeit, und beide natürlich stärkere Effekte auslösen als bei Nichtvorhandensein von Öffentlichkeitsbedingungen (keine Sprechangst). Erwartungsgemäß fallen die subjektiven Einschätzungen von Angst, psychischer

Erregtheit und auch von körperlichen Erregungssymptomen in der Bedingung der starken Sprechangst besonders deutlich aus, wobei der Faktor der Themenkenntnis keinen Einfluß auf diese subjektiven Angaben ausübt. Die frühe Kenntnis des Themas hingegen äußert sich jedoch in einer stärkeren *psychophysiologischen* Aktivierung als die Gabe des Themas unmittelbar vor Redebeginn. Selbst unter der Bedingung der starken Sprechangst konnten nur dann Herzfrequenzanstiege demonstriert werden, wenn das Thema frühzeitig bekannt war. Diese Studie, die zum Ziel hatte, die kognitive Belastungskomponente (mentale Vorbereitung auf das Thema) von der emotionalen (Angst) Komponente zu lösen, kommt zu dem Schluß, dass Herzfrequenzanstiege grundsätzlich wenig mit der Angstinduktion bei mangelnder Themenkenntnis zu tun haben. Veränderungen der elektrodermalen Aktivität, die häufig als Indikator emotionaler Belastung, insbesondere der Angst, angesehen wurden (BOUCSEIN, 1995; FOWLES, 1986), führen innerhalb der starken Sprechangstbedingung auch ohne Themenkenntnis zu deutlichen Effekten. Die Studie ist deswegen von so großer Bedeutung, da sie sehr differenziert unterschiedliche Mechanismen psychophysiologischer Aktivierung getrennt hat. Ist man nun daran interessiert, eine Situation zu schaffen, die in erster Linie durch Unsicherheit und Unvorhersagbarkeit charakterisiert ist, sollte man auf eine frühe Themenvorgabe zu Beginn der Antizipationsphase verzichten.

Public speaking erweist sich als eine sehr intensive Stressbelastung. In einer Studie an gesunden Probanden konnten ERDMANN ET AL. (1984) demonstrieren, dass PS im Vergleich zur Antizipation eines Schmerzreizes oder eines Lärmstressors zu deutlich stärkeren physiologischen Veränderungen, wie z.B. Anstiegen des systolischen und diastolischen Blutdrucks, aber auch der Herzfrequenz, führte. Da diese Untersuchung im cross-over-Design, also innerhalb der gleichen Probanden durchgeführt wurde, ist davon auszugehen, dass das Ausmaß der Belastung für die Bedingung der freien Rede eindeutig das größte war. Versucht man nun, die Ebene von Intensität, Dauer und Breite abzubilden, kommen die Autoren zu dem Schluß, dass unter diesem Aspekt der Stressor der freien Rede am besten abgeschnitten hat. Hinsichtlich der Breite ist an dieser

Stelle auch festzuhalten, dass die Auslenkung der subjektiven Befindlichkeit, insbesondere auf der Dimension der Erregung, ebenfalls besonders stark im Rahmen einer öffentlichen Rede ausfiel.

Wie auch für andere Stressoren bekannt, führen wiederholte Expositionen des Sprechangstparadigmas jedoch zu deutlichen Habituationseffekten. Nicht nur auf der Ebene peripher-physiologischer Belastungsindikatoren (insbesondere Herzrate und systolischer Blutdruck), sondern auch auf der Ebene psychischer Befindensmaße (Erregtheit, Angst) oder auch allgemein körperlicher Symptome, führt die Vorerfahrung mit der Situation „freie Rede“ zu deutlichen Reduktionen der Reaktionen in darauffolgenden Sitzungen (ERDMANN, JANKE, KALLUS, NUTZ & SCHLÖMER, 1984).

Die Effektivität des Paradigmas der öffentlichen Rede hinsichtlich verschiedener Stressreaktionsebenen ist sicherlich in der sich damit verbindenden erhöhten Selbstaufmerksamkeit zu sehen. Hinweisreize, wie das Vorhandensein von Mikrofonen oder Videokameras oder eben auch die Anwesenheit von Beobachtern, führen nach CACIOPPO, ROURKE, MARSHALL-GODELL, TASSINARY & BARON (1990) selbst in Kombination mit bedeutungslosen Reizen zu verstärkten psychophysiologischen Reaktionen. Des weiteren wird davon ausgegangen, dass die erhöhte Selbstaufmerksamkeit auch im Hinblick auf Bewertungsmaßstäbe zur Selbstwertbedrohung entgleisen kann. Diese Selbstenthüllungssituation führt zu besonders deutlichen Effekten, wenn das Thema Fehler und Schwächen der eigenen Person beinhalten soll (ALTMANN & TAYLOR, 1973).

Der Stressor PS hat sich in einer Reihe von Untersuchungen als stark angstinduzierend erwiesen. Da sich PS auch als experimentelle Modellsituation für soziale Phobien etabliert hat (HOFFMANN, EHLERS & ROTH, 1995; STEIN, WALKER & FORDE, 1996), liegen Ergebnisse vor, die sich mit der Epidemiologie der Angst bei PS beschäftigen. Es zeigt sich z.B. in einer Studie, in der 499 Probanden befragt wurden, dass ein Drittel über exzessive Angst berichten, wenn sie vor einem Publikum sprechen müssen .

1.1.1 Endokrine Effekte nach public speaking

In der frühen Studie von TAGGART, CARRUTHERS & SOMMERVILLE (1973) konnte gezeigt werden, dass eine öffentliche Rede zu starken Anstiegen von Noradrenalin, nicht hingegen von Adrenalin führt. Diese Befunde werden jedoch kontrovers diskutiert, da andere Gruppen (DIMSDALE & MOSS, 1980) auch für Adrenalin sehr deutliche Anstiege aufzeigen. DIMSDALE & MOSS (1980) führten aus diesem Grund eine Studie durch, in der sie der Frage nachgingen, ob der Zeitpunkt der Blutabnahmen von Bedeutung für die beschriebenen Diskrepanzen in der Literatur sei. In der Tat konnte auch diese Arbeit aufzeigen, dass PS relativ unabhängig davon, ob die Abnahme direkt nach Beginn der Rede oder am Ende erfolgte, eine deutliche Zunahme von Noradrenalin aufwies. Adrenalin hingegen stieg drei Minuten nach Beginn der Rede stark an, spätere Abnahmen zeigten jedoch keine Unterschiede (mehr) zur Baselinemessung auf. Bei der genaueren Betrachtung der folgenden Arbeiten fällt jedoch auf, dass der Zeitpunkt der Probenentnahme offensichtlich nicht von allzu großer Bedeutung ist. BOLM-AUDORFF, SCHWÄMMLE, EHLENZ, KOOP & KAFFARNIK (1986) demonstrieren, dass sowohl für Adrenalin als auch für Noradrenalin starke Anstiege nach Abschluss der Rede auftreten, wobei in dieser Studie nicht angegeben wird, wann diese Abnahme stattgefunden hat. Des weiteren gilt für diese Arbeit aber auch, dass eher Feldbedingungen realisiert wurden und weniger eine experimentelle Laborsituation vorlag. Nicht nur hinsichtlich des geringen Stichprobenumfangs, sondern auch der Tatsache, dass Daten über verschiedene Public-Speaking-Situationen, u.a. unter Variation der Anwesenheit anderer Personen oder auch der subjektiven Bedeutung der Situation für die Person, aggregiert wurden, ist diese Studie sicherlich kein Beispiel für eine kontrollierte laborexperimentelle Situation. Trotzdem kommt sie zu dem, auch für die vorliegende Arbeit, wichtigen Befund, dass auch die Cortisolkonzentration nach Abschluss der Rede stark erhöht ist, während für Wachstumshormon oder auch Prolaktin keine Unterschiede demonstriert werden können.

Unter sicherlich besser standardisierten Bedingungen ist der sogenannte "Trier

Social Stress Test" (TSST) durchgeführt (KIRSCHBAUM ET AL., 1993). Diese Belastungsbedingung besteht zwar aus PS *und* Kopfrechnen (mental arithmetics), weist damit also unterschiedliche Komponenten der Stressbelastung auf, führt aber doch zu sehr eindeutigen Ergebnissen hinsichtlich hormoneller Veränderungen. So zeigt sich nicht nur für Cortisol, sondern auch für ACTH, Prolaktin und Wachstumshormon ein sehr deutlicher Zuwachs der Konzentrationen nach Durchführung dieser Belastungsbedingung. In gleichem Maße finden sich deutliche Herzratenanstiege, die erwartungsgemäß schnell nach Beginn der Rede wieder abfallen. Die zitierte Arbeit geht darüber hinaus noch auf einen weiteren wichtigen Punkt ein: die Konsistenz von Cortisolauslenkungen (als Vergleich über verschiedene Studien) ist hoch und nicht nur die Kinetik, sondern auch das Ausmaß der stressinduzierten Veränderungen können gut miteinander verglichen werden kann. AL'ABSI, BONGARD, BUCHANAN, PINCOMB, LICINIO & LOVALLO (1997) vergleichen mental arithmetics und public speaking in einer balancierten cross-over-Anordnung und kommen zu dem Schluß, dass die ACTH- und Cortisolreaktionen unter PS deutlich höher ausfallen als unter mental arithmetics. Auch MAY belegt in seiner Dissertationsschrift, dass die öffentliche Rede zu einer starken Freisetzung von Hormonausschüttungen führt. ACTH, Cortisol und Prolaktin (nicht hingegen Wachstumshormon) sprechen auf die Situation der öffentlichen Rede an (MAY, 1989). Interessant an dieser Studie ist auch, dass gezeigt werden konnte, dass sich die Auslenkungen der Hormonreaktionen bei wiederholter Präsentation mit dem gleichen Stimulus deutlich reduzieren. Ein weiterer wichtiger Befund ist aber auch darin zu sehen, dass nach Abschluss der Antizipationsphase die Konzentrationen von ACTH stark ansteigen, während der Rede aber bereits wieder abfallen. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse in erster Linie durch die angstinduzierende Wirkung der Antizipationsphase, nicht hingegen durch die motorische Leistung oder kognitive Beanspruchung während der Redephase zu erklären ist. In den Arbeiten von VOIGT und Mitarbeitern (1994) wurden des weiteren Katecholamine untersucht, die ein typisches Reaktions-

muster hinsichtlich des Paradigmas der öffentlichen Rede zeigten. Es konnte demonstriert werden, dass Adrenalin den Maximalwert vor Beginn der Rede erreicht und danach bereits wieder abfällt, während Noradrenalin auch während der Rede weiter ansteigt. Es wird davon ausgegangen, dass das Muster der Aktivierung des sympathoadrenalen Systems einerseits und der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse andererseits die bereits früher angenommene Mobilisierung von Energien bzw. die psychische Komponente der Angstregulation repräsentieren. Des weiteren wird davon ausgegangen, dass Adrenalin eher Indikator für die psychische Anstrengung ist, Noradrenalin hingegen mehr die physischen Anforderungen einer Situation repräsentiert (ERDMANN & VOIGT, 1995).

In einer Untersuchung an Bankangestellten, die eine 15-minütige Rede halten mußten, finden BASSETT, MARSHALL & SPILLANE (1987) ebenfalls deutliche Unterschiede im Cortisolspiegel, sowohl für Speichel- als auch Serumcortisolwerte.

Das Paradigma des public speaking hat sich in verschiedenen Studien als effektive Situation erwiesen, Angst zu induzieren. Insofern wird es auch verschiedentlich als Testsituation für psychopharmakologische Versuchsanordnungen zur Reduktion von Angst herangezogen (MARAIS, 1989; HETEM, DE SOUZA, GUIMARAES, ZUARDI & GRAEFF, 1993; KAPCZINSKI, CURRAN, GRAY & LADER, 1994).

In einer Gruppe an Herzpatienten demonstrieren MILLER und Mitarbeiter (MILLER, LIGHT, BRAGDON, BALLENGER, HERBST, MAIXNER, HINDERLITER, ATKINSON, KOCH & SHEPS, 1993), dass sich auch endogene Opioide (- Endorphinkonzentrationen) als Folge der public-speaking-Situation erhöhen. Auch andere Autoren (SHEPS, BALLENGER, DE GENT, KRITTAYAPHONG, DITTMAN, MAIXNER, MCCARTNEY, GOLDEN, KOCH & LIGHT, 1995) bestätigen, dass PS nicht nur -Endorphinkonzentrationen erhöht, sondern, dass mit diesem Anstieg auch eine erhöhte Schmerztoleranz verbunden ist.

Das Paradigma der öffentlichen Rede löst psychophysiologische Veränderungen von z.T. erstaunlichem Ausmaß aus. Inzwischen macht man sich diese zunutze, um mit unterschiedlichen Fragestellungen auch Patientengruppen (Multiple Sklerose, atopische Dermatitis, Psoriasis) zu untersuchen, bei denen die Aktivierbarkeit der HHNR-Achse von vorrangigem Interesse ist (z.B. ACKERMAN, MARTINO, HEYMAN, MOYNA & RABIN 1996; BUSKE-KIRSCHBAUM, JOBST, WÜSTMANS, KIRSCHBAUM, RAUTH & HELLHAMMER, 1996; SCHMITT-OTT, JACOBS, JÄGER, KLAGES, WOLF, WERFEL, KAPP, SCHÜRMEYER, LAMPRECHT, SCHMIDT & SCHEDLOWSKI, 1998).

1.1.2 Immunologische Veränderungen im Zuge des Paradigmas der öffentlichen Rede

GERRITSEN, HEIJNEN, WIEGANT, BERMOND & FRIJDA (1996) sind der Frage nachgegangen, ob experimentell induzierte soziale Angst immunologische Konsequenzen auslöst. In ihrem Untersuchungsdesign wurden Probanden, die dem Paradigma der öffentlichen Rede ausgesetzt waren, mit einer Kontrollgruppe, die für die gleiche Zeit einer nicht anstrengenden Aufgabe ausgesetzt war, verglichen. Neben den bislang beschriebenen kardiovaskulären und auch endokrinologischen Effekten zeigt die Arbeitsgruppe auf, dass sich sowohl die Anzahl der natürlichen Killerzellfraktionen als auch diejenige der T-Helferzellen nach Absolvierung der freien Rede erhöht. In einer Stichprobe an Frauen demonstrieren MATTHEWS, CAGGIULA, McALLISTER, BERGA, OWENS, FLORY & MILLER (1995), dass PS ebenfalls zu immunologischen Veränderungen führt, wobei hier von einer Absenkung der prozentualen CD4-Zellfraktion und Anstiegen der absoluten NK-Zellanzahl sowie deren Aktivität berichtet wird, insbesondere bei Frauen mit hoher sympathischer Aktivierbarkeit.

Am wohl intensivsten wurde dieses Paradigma in Hinsicht auf immunologische Prozesse von der Arbeitsgruppe um Mills erforscht. Ebenfalls an Frauen (entweder während der Follikel- oder der Lutealphase) konnte gezeigt werden, dass PS

zu einem signifikanten Anstieg der CD8⁺ Zellen, NK-Zellen und des Plasma-Noradrenalin führt. Die Anstiege peripherer CD8⁺ Zellzahlen führten dann auch zu einer Reduktion des CD4/CD8-Quotienten. Die Studie ist deswegen bedeutsam, weil sie zeigt, dass unterschiedliche Reproduktionshormonspiegel offensichtlich *keinen* Einfluß auf die Stressreagibilität peripherer Lymphozytensubpopulationen ausüben (MILLS, ZIEGLER, DIMSDALE & PARRY, 1995). Im gleichen Jahr ging die Arbeitsgruppe (MILLS, HAERI & DIMSDALE, 1995) der wichtigen Frage nach, inwieweit die stressinduzierten Veränderungen peripherer Lymphozytensubpopulationen ein stabiles Phänomen repräsentieren. In zwei Sitzungen, die insgesamt sechs Wochen auseinander lagen, wurde eine PS - Studie durchgeführt. Es zeigt sich, dass nicht nur für diverse Zellpopulationen Korrelationen zwischen den Baselinewerte vorliegen, sondern auch, dass stressinduzierte Veränderungswerte, insbesondere bezüglich der Anzahl natürlicher Killerzellen, Gesamtleukozyten und dem CD4/CD8-Verhältnis, Stabilität aufweisen. Dieser Befund demonstriert, dass wiederholte Stressexpositionen offensichtlich zu einem interindividuell konstanten Muster immunologischer Veränderungen führen und somit nicht singuläre Auslenkungen repräsentieren, sondern eine grundsätzliche, stabile Reaktionsneigung.

Auch MARSLAND und Mitarbeiter gingen der Frage nach der Stabilität zellulärer Veränderungen durch PS nach (MARSLAND, MANUCK, FAZZARI, STEWART & RABIN, 1995). In ihrer Studie wurde im Abstand von zwei Wochen jeweils fünf Minuten lang eine PS-Situation durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Veränderungswerte zellulärer Immunparameter über beide Sitzungen zum Teil signifikant korreliert sind. Dies gilt für CD3⁺, CD8⁺, CD19⁺ und CD56⁺ Zellen, aber auch für die Mitogenstimulierbarkeitsänderungen (PHA), die miteinander korreliert waren.

Der Frage, ob es Prädiktoren der Ansprechbarkeit gäbe, ging die Arbeitsgruppe um Mills in einer Arbeit an 110 Probanden im public-speaking-Paradigma nach (MILLS, ZIEGLER, REHMANN & MAISEL, 1998). Als Prädiktoren wurde die β_2 -Adreno-

rezeptorsensitivität von Lymphozyten herangezogen. Auch in dieser Studie wurde das charakteristische Muster zellulärer Veränderungen nach PS aufgezeigt. Multiple Regressionen belegten, dass die zellulären Immunreaktionen in erster Linie durch eine Kombination niedriger basaler Noradrenalinspiegel mit hoher α_2 -Adrenorezeptorsensitivität sowie stärkeren stressinduzierten Anstiegen des Noradrenalins einhergehen. Die Arbeit demonstriert erneut die Bedeutung des sympathischen Nervensystems für die Veränderung von Zellzahlen nach psychischer Belastung im peripheren Blut.

REDWINE, JENKINS & BAUM (1996) gingen der Frage nach, ob public speaking auch zu einer Veränderung der α -Adrenorezeptordichte auf Lymphozyten und deren Stimulierbarkeit durch Mitogene führe. In der Tat zeigte sich neben den bereits beschriebenen Effekten hinsichtlich des kardiovaskulären Systems auch ein Anstieg der α -Adrenorezeptorzell-dichte, verbunden mit signifikanten Verringerungen der Lymphozytenstimulierbarkeit durch poke weed mitogen (PWM), nicht aber durch Concanavalin A (ConA). Die Anstiege der α -Adrenorezeptordichte waren gute Prädiktoren für das Ausmaß der Lymphozytenstimulierbarkeit für durch Mitogene.

Die Frage nach immunologischen Mechanismen veränderter Zellzahlen führt zwangsläufig zur Untersuchung der multiplen Einflüsse von PS auf zelluläre Adhäsionsmoleküle. In einer Pilotstudie an 22 gesunden Männern und Frauen, die für jeweils sechs Minuten ein PS-Paradigma durchliefen, wurden diverse zelluläre Adhäsionsmoleküle gemessen. Es zeigte sich, dass der Stressor in erster Linie zu einer signifikanten Reduktion von L-Selektin führte. Innerhalb der Gruppe der Männer zeigte sich darüber hinaus, dass für LFA-1, LFA-2 und LFA-3 (alle Bestandteile der Integrinfamilie) deutliche Reduktionen aufzuzeigen waren. Keinerlei Effekt zeigte sich für ICAM-1 (MILLS & DIMSDALE, 1996). Auf Prozesse der Zellmigration wird explizit in der Diskussion dieser Arbeit eingegangen.

Es herrscht mittlerweile Übereinstimmung vor, dass das sympathische Nervensystem an der Steuerung der Migration von Leukozyten ganz grundsätzlich beteiligt ist.

Um eines bereits an dieser Stelle vorwegzunehmen: Kurzfristige katecholaminerge Aktivierung lymphoider Subpopulationen ist ein ausgesprochen transientes Phänomen. Bereits wenige Minuten nach dem Stressor oder einer Applikation finden sich die zunächst veränderten Anzahlen peripherer Lymphozyten zurückreguliert auf ihr Ausgangsniveau.

Übereinstimmend weisen HERBERT, COHEN, MARSLAND, BACHEN, RABIN, MULDOON & MANUCK (1994) und MANUCK, COHEN, RABIN, MULDOON & BACHEN (1991) darauf hin, dass Individuen mit großer, durch akuten Stress induzierter katecholaminerger Reagibilität auch die stärksten immunologischen Veränderungen aufweisen. Auch pharmakologische Studien demonstrieren, dass die Applikation adrenerger Agonisten zu einem Verteilungsmuster peripherer Lymphozyten führt, wie es bei akuten Stressversuchen beobachtet wird (CRARY, HAUSER, BORYSENKO, KUTZ, HOBAN, AULT, WEINER & BENSON, 1983; MURRAY, IRWIN, REARDON, ZIEGLER, HAUGER, NELESEN & BROWN, 1993). Dieses Phänomen kann komplett unterbunden werden, indem zuvor Betablocker appliziert werden (BENSCHOP, NIEUWENHUIS, TROMP, GODAERT, BALLIEUX & VAN-DOORNEN, 1994; MURRAY, ET AL., 1993). Aus pharmakologischen Studien ist bekannt, dass das Phänomen der milden Leukozytose katecholaminerg vermittelt voraussichtlich über den β_2 -Adrenorezeptor mediiert ist. Dies mag u.U. auch erklären, warum der Effekt auf natürliche Killerzellen besonders deutlich ist, da diese nachweislich die höchste β_2 -Rezeptorsensitivität aufweisen (MAISEL, HARRIS, REARDON & MARTIN, 1990). Es wird im allgemeinen angenommen, dass der größte Teil der freigesetzten Lymphozyten der Milz entstammt. Interessant ist in diesem Zusammenhang ein Befund, der demonstriert, dass nach Infusion von β -adrenergen Agonisten in milzexstirpierten Patienten noch ein (wenn auch schwächerer) Anstieg der Anzahl peripherer NK-Zellen zu verzeichnen ist (VAN TITS, MICHEL, GROSSE-WILDE, HAPPEL, EIGLER, SOLIMAN & BRODDE, 1990). Neuere Studien demonstrieren darüber hinaus, dass

Adrenalin insbesondere die Adhäsion von NK-Zellen an das Endothelium reduziert, so dass dadurch eine Freisetzung dieser Zellen in die Peripherie ermöglicht wird (BENSHOP, OOSTVEEN, HEIJNEN & BALLIEUX, 1993). Die Daten der Arbeitsgruppe um CACIOPPO belegen ebenfalls, dass Personen mit hoher sympathischer Aktivierung der Herzrate besonders deutliche Veränderungen immunologischer Parameter aufweisen und unterstützen damit die Befundlage zum katecholaminergen Einfluß kurzfristiger immunologischer Veränderungen (CACIOPPO, 1994; SGOUTAS-EMCH, CACIOPPO, UCHINO, MALARKEY, PEARL, KIECOLT-GLASER & GLASER, 1994; UCHINO, CACIOPPO, MALARKEY & GLASER, 1995). Die Arbeiten dieser Gruppe sind insofern hilfreich, als sie zu einem zweiten wesentlichen Punkt der Frage nach Mechanismen der streßinduzierten Veränderung von Lymphozytensubpopulationen überleiten. Bemerkenswerterweise sind Personen mit hoher sympathischer Aktivierbarkeit auch solche, die besonders starke Ausschüttungen des Nebennierenrindenhormons Cortisol aufzeigen (LOVALLO, PINCOMB & BRACKETT, 1990; SGOUTAS-EMCH ET AL., 1994). Insofern ist in der Folge kurz anzusprechen, welche immunmodulatorischen Konsequenzen die kurzfristige Ausschüttung von Cortisol auf lymphoide Subpopulationen ausübt.

Glukokortikoide und Zellmigration

Es ist seit langem bekannt, dass Glukokortikoide bei so ziemlich allen messbaren immunologischen Phänomenen von Einfluß sind. Insbesondere im Hinblick auf entzündliche Erkrankungen ist der immunsuppressive Effekt höherer Cortisondosierungen allseits bekannt. Die Literatur zu dieser Thematik ist annähernd unüberschaubar, so dass in der Folge eine sehr bewusste Reduktion auf bestimmte Aspekte der glukokortikoidvermittelten Manipulation immunologischer Prozesse vorgezogen werden muß. Des weiteren ist davon auszugehen, dass viele Befunde aus Tierstudien nicht uneingeschränkt übertragbar sind, da bekannt ist, dass bestimmte Spezies, so z.B. Mäuse oder Ratten, sehr viel stärker glukokortikoidsensitiv sind, als dies für Menschen gilt (CLAMAN, 1972).

Hinsichtlich der Frage nach zugrundeliegenden Mechanismen der glukokortikoidinduzierten Immunmodulation ist bekannt, dass der intrazelluläre Glukokortikoidrezeptor von fundamentaler Bedeutung ist. Dieser ist bereits früh in Lymphozyten (LIPPMAN, PERRY & THOMPSON, 1974), Monozyten (WERB, FOLEY & MUNCK, 1978), sowie neutrophilen und eosinophilen Granulozyten (CRABTREE, MUNCK & SMITH, 1980; PETERSON, ALTMAN, HILL, GOSNEY & KADIN, 1981) identifiziert worden. Wichtig ist aber auch, dass Charakteristika dieses Rezeptors nicht statisch sind, sondern, dass sich z.B. die Dichte in Abhängigkeit von der Phase des Zellzyklus ändern kann (CRABTREE, ET AL., 1980). Die Komplexität der Neuroimmuninteraktionen läßt sich auch auf intrazellulärem Niveau demonstrieren. So ist z.B. schon 1973 bekannt geworden (PARKER, HUBER & BAUMANN, 1973), dass die Glukokortikoidzugabe zu in-vitro-Kulturen nicht nur zu einer Akkumulation von zyklischem AMP in Lymphozyten führt, sondern auch die Sensitivität dieser Zellen gegen Katecholamine erhöht. Dieser Befund ist z.B. in Hinblick auf Belastungsstudien, in denen Katecholamine und Cortisol von Interesse sind, unbedingt zu beachten.

Glukokortikoide haben massiven Einfluß auf die Anzahl peripherer Lymphozyten bzw. deren Migrationsverhalten. Einfache Dosen von Kortikosteroiden, die im Humanbereich appliziert werden, führen innerhalb kurzer Zeit zu einer (kurzfristig andauernden) Lymphopenie und einer Rückkehr auf Ausgangswerte innerhalb von 24 Stunden (FAUCI, DALE & BALOW, 1976), wobei ebenfalls bekannt ist, dass es sich um Redistributionsphänomene und nicht um Zelllyse und anschließend stattfindende Neubildung lymphoider Zellen handelt (FAUCI & DALE, 1975A; FAUCI & DALE, 1975B). Dies bedeutet allerdings nicht, dass auch physiologische Dosen von Glukokortikoiden keine Zelllyse verursachen könnten. Wichtig ist aber, dass der Effekt von Glukokortikoiden dann wieder abhängig von dem Aktivierungsgrad der Zellen ist. So ist bekannt, dass aktivierte T-Zellen selbst unter physiologischen Dosen viel eher zelllytischen Einflüssen durch Glukokortikoide unterliegen können als normale, nicht stimulierte Lymphozyten. Ebenfalls bereits aus den siebziger Jahren weiß man, dass Glukokortikoide differentielle Effekte auf die

Migration von Leukozyten ausüben. Während sich die Anzahl zirkulierender neutrophiler Granulozyten erhöht, findet man bei fast allen anderen Subpopulationen, insbesondere bei lymphoiden Zellen, eher Reduktionen der Anzahl (CUPPS & FAUCI, 1982).

In weiteren Untersuchungen konnte demonstriert werden, dass ein bestimmtes lymphozytäres Antigen (LEU8) offensichtlich als „homing receptor“ angesehen werden kann (CAMERINI, JAMES, STANENKOVIC & SEED, 1989; COOMBE & RIDER, 1989; GALLATIN, WEISMAN & BUTCHER, 1983). Die Gabe des synthetischen Glukokortikoids Dexamethason führt hypothesengemäß auch bei der Gruppe der CD4+ LEU8+ - Lymphozyten zu einem starken Abfall (32%; Bereich: 5-80%) (CHIAPELLI, GWIRTSMAN, LOWY, GORMLEY, NGUYEN, NGUYEN, POPOW, ESMAIL, FAHEY & STROBER, 1991). Diese Reaktion scheint allerdings typisch für die CD4+ Zellsubfraktion zu sein, da bei allen anderen hier untersuchten Lymphozytenpopulationen (CD8-, B-, NK-Zellen) keinerlei Veränderungen aufgezeigt werden konnten.

Das LEU8-Antigen, welches auch als "leucocyte endothelial cell adhesion molecule-1" (LECAM-1) charakterisiert wurde, ist in zum Teil unterschiedlichem Ausmaß auf Lymphozyten exprimiert, wobei CD3-positive mit 80%, CD20-positive mit 10% und in mäßigem Ausmaß Monozyten und Granulozyten über dieses Antigen verfügen (LANIER, ENGLEMAN, GATENBY, BABCOCK, WARNER & HERZENBERG, 1983). Wenn dieses Leukozytenantigen in der Tat von fundamentaler Bedeutung für homing-Prozesse sein sollte, ist zu erwarten, dass nach Anhebung der Glukokortikoidspiegel (endogene Veränderungen, oder bei Applikation von z.B. Dexamethason) die Fraktion der T-Zellen am deutlichsten betroffen ist.

Es liegen aus unterschiedlichen Richtungen eher indirekte Hinweise auf den Zusammenhang zwischen zirkulierenden Cortisolspiegeln und der Anzahl peripherer Lymphozytensubpopulationen vor. Deutlich wird dies z.B. auch in der entgegengesetzten Tagesrhythmizität dieser Parameter (ABO, KAWATE, ITOH & KUMAGAI, 1981; MIYAWAKI, TAGA, NAGOKI, SEKI, SUZUKI & TANIGUCHI, 1984; Ri-

CHARDSON & MARTIN, 1988; RITCHIE, OSWALD, MICKLEM, BOYD, ELTON, JAZWINSKA & JAMES, 1983). In einer Folgestudie ist die Arbeitsgruppe um CIAPELLI (CHIAPELLI, GORMLEY, GWIRTSMAN, LOWY, NGUYEN, NGUYEN, ESMAIL, STROBER & WEINER, 1992) der Frage nachgegangen, in welcher zeitlichen Kinetik sich die Veränderungen peripherer Lymphozyten nach Dexamethasongabe verändern. Zu diesem Zweck wurde am Vorabend der Hauptuntersuchung (22.00 Uhr) eine einzelne Dosierung von 1 mg Dexamethason (entweder per os oder iv) appliziert. Am nächsten Morgen um 8 Uhr (also nach 10 Stunden) wurden Blutproben entnommen. Zur Prüfung der Frage der möglichen Effektdauer gab es jedoch noch eine weitere Blutentnahme nachmittags um 16 Uhr (18 Stunden nach Dexamethasongabe). Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Plasmaspiegel von Dexamethason nicht unterschiedlich waren zwischen 10 und 18 Stunden nach Applikation (weder nach per-os- noch nach iv-Gabe). Während 10 Stunden nach Dexamethasongabe im Vergleich zur Placebobedingung keinerlei Unterschiede in der Reaktion auf PHA, der natürlichen Killerzellaktivität, oder auf die Anzahl von Glukokortikoidrezeptoren auf peripheren monozytären Zellen nachweisbar waren, reduzierte sich nicht nur das Verhältnis von CD4-/CD8-Zellen, sondern auch die absolute Anzahl der peripheren CD4-Zellen nach Dexamethasongabe (jedoch nur bei der per-os-Gabe). Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Anzahl peripherer CD8-Zellen nach iv-, nicht aber nach per-os-Gabe von Dexamethason. Prozentzahl und Anzahl der natürlichen Killerzellen stiegen ebenfalls 10 Stunden nach Dexamethasongabe an, wobei dieser Anstieg nur bei den CD16+/ CD56+ -Zellen signifikant wurde, wenn Dexamethason iv gegeben wurde. Anzahl und Prozentzahl peripherer B-Zellen (CD20+) zeigten keinerlei Veränderung nach Dexamethasongabe. Während auch 18 Stunden nach Dexamethasongabe die Cortisolspiegel noch deutlich supprimiert waren (und keine Unterschiede zur Konzentration 10 Stunden post Dexamethason aufwiesen), geht diese Arbeit auf einen Einfluß auf periphere Lymphozytensubpopulationen nach diesem Zeitraum nicht weiter ein. Dass 18 Stunden nach Dexamethason de facto keine Unterschiede mehr aufzeigbar sind, kann aus dieser Arbeit nur indirekt geschlossen werden.

Betrachtet man die bislang dargestellten Befunde zur Veränderung psychobiologischer Veränderungen nach PS, so ergibt sich ein recht einheitliches Bild psychischer, endokriner und immunologischer Reaktionen, die sich nicht nur hinsichtlich des Ausmaßes, sondern auch hinsichtlich der Kinetik verändern. Letzteres Kriterium ist bislang kaum aufgegriffen worden. Es entsteht der Eindruck, dass PS zur Bereitstellung früher aktivierender Reaktionen aber auch zu später einsetzenden hormonellen Veränderungen führt, die durchaus auf dem Hintergrund der Reaktivierung interpretiert werden können. Abbildung 1 zeigt schematisch den Verlauf verschiedener psychobiologischer Belastungsindikatoren, wobei das Ausmaß der Veränderungen nicht den realen Verhältnissen entspricht, sondern lediglich eine Vergleichbarkeit der Kinetik erleichtern soll. Die Daten sind unterschiedlichen, bereits zitierten Publikationen entnommen.

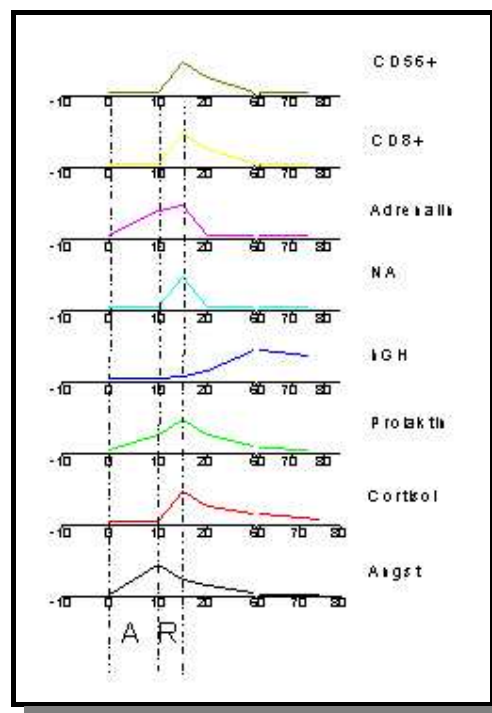


Abbildung 1: Vergleichende, schematisierte Darstellung der Kinetik unterschiedlicher psychobiologischer Reaktionen im Paradigma des "public speaking" (hGH = Wachstumshormon, NA=Noradrenalin, A=Antizipationsphase, R=Redephase)

Abbildung 1 soll verdeutlichen, dass zu den besonders frühen Reaktionen Anstiege der Angst und des Adrenalins gehören. Unmittelbar nach der Rede findet man die stärksten Auslenkungen von Noradrenalin, Prolaktin aber auch peripheren Lymphozyten (insb. CD8+ und CD56+ Zellen). Relativ spät dazu setzt die Cortisolantwort ein, die hinsichtlich der zeitlichen Latenz noch von Wachstumshormon übertroffen wird.

Es gibt, und dies ist in der Folge darzulegen, diverse Hinweise in der Literatur, dass an der Redistribution (homing) lymphoider Zellen Cortisol entscheidend beteiligt sein könnte. Im folgenden wird daher kurz auf die Rolle des Cortisols in stressvermittelten Veränderungen peripherer Lymphozytensubpopulationen eingegangen, um danach ein Regulationsmodell für Lymphozytenmigration aufzustellen, und um auf die zugrundeliegenden Fragestellungen der hier vorliegenden Studie genauer einzugehen.

1.2 Überleitung zur Fragestellung

Fasst man die bisherigen Befunde zusammen, so wird deutlich, dass insbesondere zwei grundsätzliche Prozesse Einfluß auf stressinduzierte Veränderungen peripherer Lymphozyten nehmen: Zum einen führt eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems und der damit verbundenen Freisetzung von Katecholaminen zu einer raschen Erhöhung der Anzahl peripherer CD8+ und CD56+ Zellen. Des weiteren ist aber auch festzuhalten, dass exogene Glukokortikoidgaben ebenfalls einen profunden Einfluß auf die Zahl von Lymphozytensubpopulationen haben, wobei hier an erster Stelle die Reduktion im Sinne eines homing-Prozesses beobachtet wurde. Bislang liegt keine Studie vor, die der Frage nachgegangen ist, ob die Rückregulation katecholaminerg vermittelter Anstiege peripherer Lymphozyten einer Vermittlung durch Glukokortikoide unterliegt. Es ist auffällig, dass die Anstiege peripherer Lymphozyten (z.B. NK-Zellen oder auch CD8+-Zellen) sehr rapide abklingen. Dies kann alleine nicht mit der Genetik oder dem

weiteren Metabolismus von Katecholaminen erklärt werden. Es stellt sich also die Frage, ob diese Rückführung der erhöhten Anzahl peripherer Lymphozyten auf ihr Ursprungsniveau einer Vermittlung durch die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse unterliegt. Bislang liegen keine Daten aus Humanversuchen zur Prüfung dieser Fragestellung vor. Eine Arbeit im Tiermodell weist allerdings auf die Sinnhaftigkeit eines solchen Untersuchungsansatzes hin und soll vor der Überleitung zu den Fragestellungen der hier vorliegenden Studie kurz Erwähnung finden. Unter Verwendung eines Immobilisationsstressparadigmas bei Ratten konnte zunächst gezeigt werden, dass für die Dauer von zwei Stunden nicht nur dramatische Kortikosteroidanstiege, sondern auch Reduktionen der Leukozyten, insbesondere der Lymphozytenpopulation, eintreten, während die Fraktion der neutrophilen Granulozyten ansteigt. Insbesondere spezifische Zellfraktionen, wie T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen, aber auch Monozyten, zeigen einen drastischen Abfall, obgleich die Anzahl der T-Zellen sich im Vergleich zu den anderen Fraktionen am wenigsten verändert, was wahrscheinlich daran liegt, dass die Fraktion der CD4-positiven Zellen ansteigt. In weiteren Versuchen demonstriert die Arbeitsgruppe um DHABAR, dass die Nebennierenrindenhormone ganz offensichtlich von großer Bedeutung für die gezeigten immunologischen Effekte sind. Das Ausmaß immunologischer Veränderungen ist deutlich reduziert bei Nebennieren - exstirpierten Tieren, wobei dieser Eingriff besonders deutliche Reduktionen der Veränderungen von B-Zellen, NK-Zellen und Monozyten mit sich brachte. Die Autoren gehen davon aus, dass bei Stress bestimmte Leukozytensubpopulationen selektiv in bestimmten Kompartimenten durch Adhäsionsprozesse, die ihrerseits glukokortikoid vermittelt sind, anlagern und sich somit ihre Anzahl im peripheren Blut reduziert (DHABAR, MILLER, McEWEN & SPENCER, 1995). In der Tat gibt es aus pharmakologischen Experimenten Hinweise darauf, dass z.B. Prednisolon dazu führt, dass zirkulierende Lymphozyten zum Knochenmark, der Milz und den Lymphknoten geführt werden, was zu einer Reduktion dieser Zellzahlen im peripheren Blut führt (COX & FORD, 1982; SPRY, 1972). Auch Dexamethason scheint Einfluß auf diese Zelladhäsionsprozesse

auszuüben, da EGUCHI, KAWAKAMI, NAKASHIMA, IDA, SAKITO, MATSUOKA, TERADA, SAKAI, KAWABE & FUKUDA, (1992) demonstrieren konnten, dass die Adhäsion von T-Zellen an Endothelialzellen unter bestimmten Bedingungen durch Dexamethason gehemmt wird.

Aus diversen Belastungsstudien, aber auch aus pharmakologischen Ansätzen, ist also bekannt, dass eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems und einer in der Folge erhöhten Ausschüttung von Katecholaminen den initialen Prozeß der Lymphozytose vermitteln. Ergebnisse aus anderen Arbeiten zeigen hingegen, dass exogen applizierte oder endogen ausgeschüttete Glukokortikoide zu einer Reduktion der peripheren Anzahl von Leukozyten führen. Aufgrund der Tatsache, dass die Frage nach der Rückregulation katecholaminerg induzierter Anstiege der Leukozytenzellzahlen bislang nicht systematisch untersucht wurde, drängt sich die Frage auf, ob belastungsinduzierte Cortisolanstiege nicht genau für diesen Effekt verantwortlich gemacht werden können. Das zentrale Anliegen der hier vorliegenden Studie ist demnach, über eine pharmakologische Suppression der endogenen Cortisolausschüttung mittels Dexamethason nachzuweisen, ob bei Ausbleiben einer Cortisolantwort unter Streß die Redistribution (homing) von peripheren Lymphozyten unterbunden werden kann.

Konkret formuliert ergibt sich bei diesem Untersuchungsanliegen die folgende Frage:

Führt die Blockade einer stressbedingten Cortisolreaktion durch Dexamethason zu einer Unterbindung der Redistribution peripherer CD8+ und CD56+ Zellen ?

Grafisch dargestellt, wird bezüglich der Stressantwort von folgender Situation ausgegangen (Abbildung 2).

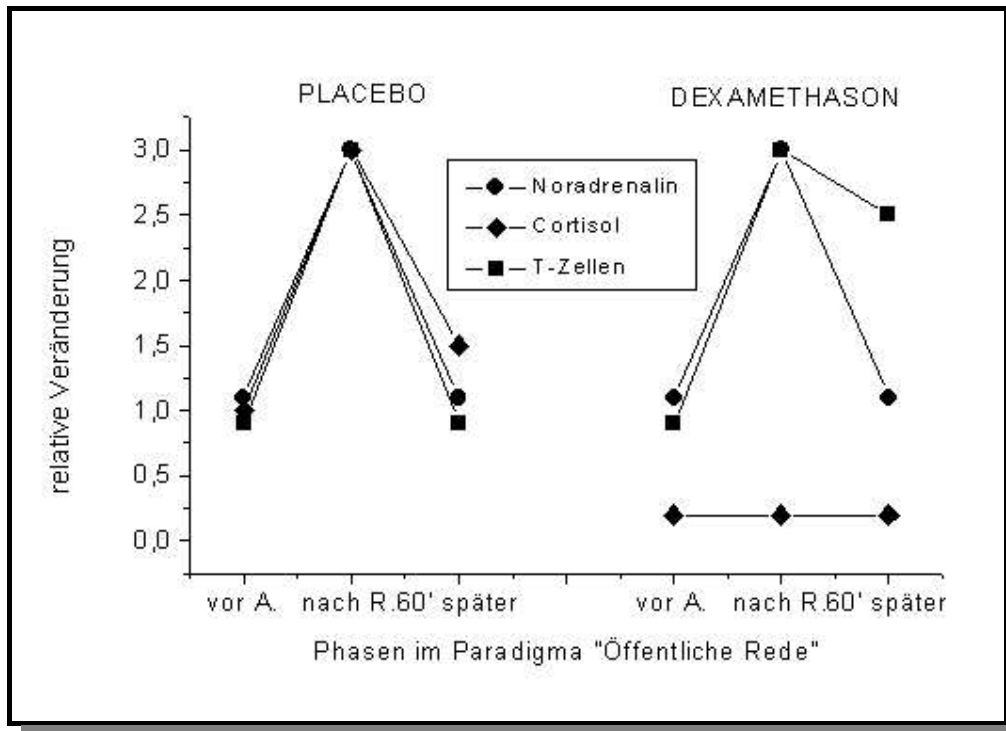


Abbildung 2: Hypothetische Veränderungen von Noradrenalin- und Cortisolkonzentrationen sowie der Anzahl peripherer T-Zellen nach vorheriger Gabe von Placebo bzw. Dexamethason durch den Stressor "Öffentliche Rede".

Abbildung 2 soll verdeutlichen, dass die Blockade der endogenen Stressantwort die Rückregulation der stress- bzw. Noradrenalin-vermittelten Anstiege der T-Zell-Fraktion unterbindet und dass somit im Vergleich zur Placebo-behandelten Gruppe der vollständige "homing-Prozess" ausbleibt. Diese Hypothese geht jedoch von einigen Prämissen aus, die im Zuge der Ergebnisdarstellung dieser Studien zunächst geprüft werden sollen (Tabelle 1):

Tabelle 1: Prämissen zur Prüfung der Hypothese, dass eine Blockade der stressinduzierten Cortisolantwort das homing-Verhalten von Lymphozyten reduziert oder sogar unterbindet.

Prämisse	Inhalt	Begründung
1	Die Konfrontation mit der Situation "Öffentliche Rede" muss als belastend erlebt werden.	Die der Untersuchung zugrundeliegende Fragestellung bezieht sich auf psychische Belastung.
2	Der Stressor muss zu einer Aktivierung des Sympathikus (hier: zu Katecholaminanstiegen) führen.	Die Literatur legt nahe, dass die Anstiege peripherer Lymphozytenanzahlen katecholaminerg vermittelt sind.
3	Die Anzahl peripherer Lymphozyten-subpopulationen sollte sich stressbedingt erhöhen (insb. NK-Zellen und CD8+Zellen).	Voraussetzung für eine Prüfung des verminderten homings ist eine initiale Anhebung der Anzahl von Lymphozyten im peripheren Blut.
4	Der Stressor muss (innerhalb der Placebobedingung) zu einer Cortisolantwort führen.	Cortisolanstiege werden als wichtiger Faktor zur Regulation von homing angesehen.
5	Dexamethason sollte keinen Einfluss auf die Anzahl peripherer Lymphozyten, Katecholaminspiegel oder Befindlichkeitsangaben zu Stressbeginn ausüben.	Wichtig hinsichtlich möglicher Unterschiede in der Glukokorticoidsensitivität von Lymphozyten sind gleiche Ausgangsvoraussetzungen für Personen mit und ohne Cortisolsuppression.
6	Dexamethason sollte keinen Einfluss auf Katecholaminveränderungen oder Befindlichkeitsangaben unter Stress ausüben.	Die Phase der initialen Stimulierung von Migrationsverhalten sollte nicht durch die Cortisolblockade beeinflusst sein. Des weiteren sollte das Ausmaß der subjektiven Belastung unter Cortisolblockade dem unter Placebobehandlung entsprechen.
7	Unter Dexamethason sollte die Stress-induzierte Cortisolantwort ausbleiben.	Die Reduktion der Cortisolantwort unter Stress ist die Voraussetzung zu Prüfung des Hormoneinflusses auf homing

Im folgenden Methodenteil wird beschrieben, wie die Untersuchung zum Einfluss der Cortisolantwort auf die Redistribution peripherer Lymphozyten nach psychischer Belastung durchgeführt wurde.

2. Methoden

2.1 Stichprobe

An der Untersuchung nahmen insgesamt 80 männliche Versuchspersonen im Alter zwischen 21 und 35 Jahren ($\bar{x} = 26,1$; $SD = 3.5$) teil, die zum größten Teil Studenten der Justus-Liebig-Universität Gießen waren. Die Entscheidung, nur Probanden männlichen Geschlechts einzubeziehen, resultiert aus der Kenntnis des bekannten Geschlechtsdimorphismus immunologischer Parameter (siehe z.B. GROSSMAN, 1985) aber vor allem auch aus Befunden, dass die endokrinologische Reagibilität bei Frauen stark von der Zyklusphase (COLLINS, ENEROTH & LANDGREN, 1985) oder auch von der Einnahme hormoneller Kontrazeptiva abhängt (KIRSCHBAUM, KUDIELKA, GAAB, SCHOMMER & HELLHAMMER, 1999). Des Weiteren wurden nur Probanden einbezogen, die keinerlei akute oder chronische Erkrankung aufwiesen, weder zur Zeit noch jemals zuvor in neurologisch / psychiatrischer oder psychotherapeutischer Behandlung waren und nicht rauchten. Die jeweiligen Ausschlusskriterien wurden mittels Fragebogen (siehe Anhang 1) zu einem Vortermin erfasst. Darüber hinaus erhielten die Probanden detaillierte Informationen über den Versuch (siehe Anhang 2) und unterzeichneten schließlich eine Einverständniserklärung (siehe Anhang 5). Der Versuch wurde zur Prüfung der ethischen Unbedenklichkeit der Ethikkommission der Deutschen Gesellschaft für Psychologie (DGPs) vorgelegt und als unbedenklich eingestuft (siehe Anhang 6).

2.2 Versuchsplan

Aufgrund der Tatsache, dass in der vorliegenden Untersuchung nicht nur der Einfluß von psychischer Belastung auf endokrinologische und immunologische Parameter, sondern darüber hinaus auch die Rolle der Cortisolausschüttung in Zusammenhang mit Zellmigrationen über eine pharmakologische Blockade geprüft wird, handelt es sich um ein zwei-faktorielles Untersuchungsdesign, wobei jeder Faktor zweifach gestuft ist:

Tabelle 2: Untersuchungsplan und Stichprobenumfang je Gruppe

Belastungsbedingung	Placebo	Dexamethason
Kontrolle	N=20	N=20
psychische Belastung	N=20	N=20

Die Zuordnungen zur entsprechenden Untersuchungsbedingung erfolgten randomisiert und doppelt-blind.

2.3. Unabhängige Variablen

a) Öffentliche Rede

Wie bereits ausführlich dargestellt, wurde auch in dieser Studie das Paradigma der öffentlichen Rede eingesetzt, wobei es sich um die Variante der Induktion starker Sprechangst (keine Themenvorgabe) mit Öffentlichkeit handelte, da dies in besonders starkem Maße zu subjektiven und objektiven Belastungsreaktionen führt. Diese Bedingung des Paradigmas erfüllt alle Voraussetzungen für eine Prüfung der unter 1.2 aufgestellten Frage, da es nicht nur zur Aktivierung des Migrationsverhaltens peripherer Lymphozyten, sondern auch zu starken Anstiegen von Cortisol führt (siehe 1.1.1).

b) Medikation

Am Vorabend des Experimentes (22.00 Uhr) erhielten die Probanden in identischen Kapseln dargereicht, entweder ein Placebo oder eine einmalige Dosierung von 1.5 mg Dexamethason (Pharmagalen, GmbH, Kiel). Diese relativ hohe Dosierung von 1.5 mg wurde gewählt, um zum einen eine effektive Suppression der endogenen Cortisolspiegel auszulösen und andererseits um einer Durchbrechung der Suppression im Zuge der Stressreaktion entgegenzuwirken.

2.4 Abhängige Variablen

2.4.1 Subjektive Indikatoren psychischer Belastung

Zur Erfassung der subjektiven Belastungsempfindung wurde ein Fragebogen eingesetzt, der die wichtigsten Dimensionen der Befindlichkeit erfasst und sich maßgeblich an der Eigenschaftswörterliste (EWL) orientiert (Janke & Debus, 1978). Dieser Fragebogen (siehe Anhang) enthält diverse, korrelierte Dimensionen der Befindlichkeit, so dass es sich empfiehlt, eine Dimensionsreduktion (Faktorenanalyse) vorzunehmen. Die folgende Tabelle gibt die rotierten Faktorladungen einer Varimax - Rotation aller Items wieder und demonstriert, dass der Fragebogen auf zwei grundsätzliche Dimensionen reduziert werden kann, die zusammen 60% der Varianz des Gesamtfragebogens aufdecken und darüber hinaus sinnvolle Dimensionen im Stressgeschehen repräsentieren.

Tabelle 3 Rotierte Faktorladungen der Items zur Erfassung der subjektiven Befindlichkeit.

Gefühl der (des)	Faktor 1	Faktor 2
	„angenehme Aktiviertheit“	„Erregung, Verspannung“
Aktiviertheit	.89	
seelischen Wohlbefindens	.63	
Energielosigkeit	-.74	
Wachheit	.75	
gehobene Stimmung	.66	
Innere Erregung		.86
Innere Entspannung		-.62
Missstimmung		.55
Ärger		.54
körperliches Unwohlsein		.67
Erklärte Varianz	33.7%	25.6%

Die Analyse ergibt, dass die beiden Faktoren „angenehme Aktiviertheit“ und „Erregung / Verspannung“ den wichtigsten Anteil der Binnenstruktur des Fragebogens wiedergeben und daher in der Folge anstatt aller 12 Items Verwendung als abhängige Variablen auf der Ebene der subjektiven Befindlichkeit finden, indem die salienten Items zu einem Summenwert addiert werden.

2.4.2 Biochemische Messungen

2.4.2.1 Differentialblutbild

Zur Ermittlung der absoluten Anzahl von Leukozyten wurde das Differentialblutbild mittels Coulter-Counter Analyse erhoben.

2.4.2.2 Lymphozytentypisierung und Berechnung absoluter Zellzahlen

Die Lymphozytentypisierung wurde mittels Durchflusszytometrie unter Verwendung einer Immunofluoreszenzmarkierung (IMK, Beckton Dickinson, Heidelberg) für Vollblut EDTA-Proben durchgeführt. Je 100 μ l Probe wurde in sechs verschiedene 12x75 mm Polysterolröhrchen pipettiert, die nach dem in Tabelle 4 aufgestellten Schema mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern (je 20 μ l) versetzt wurden.

Anschließend wurden alle Röhrchen mit 10-fach verdünnter Lösung zur Lyse der Erythrozyten versetzt (<50% Diethylenglycol; <15% Formaldehyd), für drei Sekunden geschüttelt und 10-12 Minuten lichtgeschützt inkubiert. Danach wurde eine Zentrifugation (300g) für 5 Minuten durchgeführt, um ein Zellpellett zu erhalten. Der Überstand wurde verworfen, und die Zellen wurden mehrfach gewaschen und anschließend am Flow-Zytometer (FACScan, Beckton Dickinson, Heidelberg) ausgewertet.

Tabelle 4: Markierte Antikörper und Funktionen in der Durchführung der Lymphozytentypisierung

Probe	Zusatz	Funktion
1	FITC-markierter Anti-CD45 (Leukozyten) PE - markierter Anti-CD14 (Monozyten)	Separation von Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten
2	FITC-markiertes IgG ₁ , Klon X40 PE - markiertes IgG ₂ , Klon X39	Beide Antikörper reagieren mit KLH, einem Antigen, das nicht auf Leukozyten exprimiert wird (negativ Kontrolle)
3	FITC- markiertes Anti-Leu-4 (CD3) PE-markiertes Anti-Leu-12 (CD19)	Identifikation von CD 3+ und CD 19+ Zellen
4	FITC- markiertes Anti-Leu-3a (CD4) PE-markiertes Anti-Leu-4a (CD8)	Identifikation von CD 4+ und CD 8+ Zellen
5	FITC- markiertes Anti-Leu-4 (CD3) PE-markiertes Anti-HLA-DR	Identifikation von aktivierten CD 3+ Zellen
6	FITC- markiertes Anti-Leu-4 (CD3) PE-markiertes Anti-Leu-11c (CD16) PE-markiertes Anti-Leu-19 (CD56)	Identifikation von CD56+ Zellen

Nach Ausgabe aller prozentualen Zellsubpopulationshäufigkeiten wurden die absoluten Zellzahlen in Kombination mit den Ergebnisse der Coulter-Counter - Analyse berechnet. Am Beispiel peripherer CD4+ Zellen soll dies verdeutlicht werden:

$$\frac{\% \text{Anti-leu3a+}}{100} \cdot \frac{\% \text{Lymphozyten}}{100} \cdot (\text{Anzahl Leukozyten [WBC] / mL})$$

Wie aus der Formel ersichtlich, wird der prozentuale Anteil der peripheren CD4+ Zellen über den prozentualen Anteil der Gesamtlmphozyten sowie die absolute Anzahl der Leukozyten in eine absolute Zellzahl überführt.

2.4.2.3 Cortisol

Cortisol wurde im Plasma unter Verwendung eines kommerziellen Enzymimmunoassays (DRG, Marburg) bestimmt. Das Testprinzip basiert auf einer kompetitiven Bindung zwischen Cortisol und Meerettich-Peroxidase markiertem Cortisol (Konjugat) mit einer fixierten und limitierten Menge von spezifischem Antikörper, der an die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte gebunden ist. Die Menge von 50 μ l Plasmaprobe oder Standards wird in Doppelbestimmungen in die Wells der Platte gegeben und anschließend mit 200 μ l Konjugat für eine Stunde unter Raumtemperatur bei kontinuierlicher Bewegung (200 r/min) inkubiert. Anschließend wird die flüssige Phase abgesaugt und die Platte mindestens dreimal gewaschen. Danach fügt man 100 μ l des Substrats (3,3'-5,5' Tetramethylbenzidine und H_2O_2) hinzu und inkubiert erneut für 15 Minuten. Die Reaktion wird mittels 0.5 M H_2SO_4 gestoppt und die resultierende Färbung wird unter Verwendung eines Photometers bei 450nm (Referenzfilter: 620nm) gemessen. Die Intensität (OD, optical density) der Färbung ist umgekehrt proportional zur Cortisolkonzentration der Probe. Die Kreuzreaktivität mit Dexamethason ist kleiner 0.1%. Inter- und Intra-Assay Varianz liegen bei ca. 5% bzw. 4%.

2.4.2.4 Noradrenalin und Adrenalin

Die Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin wurden mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPCL) unter Verwendung einer elektrochemischen Detektion analog dem Routineverfahren im Zentrallabor des Klinikums der Justus-Liebig-Universität bestimmt (Klinische Chemie, Prof. Dr. N. Katz).

2.5 Versuchsdurchführung

Die Untersuchung gliederte sich in zwei Teile. Im Rahmen eines Vorterrmins wurden die Probanden über den Gegenstand der Studie informiert (siehe Anhang

2). Des Weiteren wurde mittels Fragebogen der derzeitige Gesundheitsstatus erhoben, sowie alle anderen relevanten Ausschlusskriterien zur Teilnahme ermittelt (siehe Anhang 1). Beiläufig wurden die Teilnehmer nach ihrem „Traumberuf“ befragt, da dies für die Experimentalgruppe von Bedeutung für die Auswahl des Redethemas in der Hauptuntersuchung war (s.u.). Abschließend wurde ein Termin für den Hauptversuch vereinbart und eine schriftliche Einverständniserklärung des Probanden eingeholt (siehe Anhang 5). Am Vorabend des Hauptversuches erhielten die Probanden eine in identischen Kapseln verabreichte Gabe von entweder Placebo oder 1.5 mg Dexamethason.

Der Hauptversuch am Folgetag begann um 16.30 Uhr, einer hinsichtlich der circadianen Rhythmik verschiedener Parameter günstigen Zeit. Nach dem Betreten der Untersuchungsräume suchte der Proband zunächst die Toilette auf, um danach einen Fragebogen zur situativen Befindlichkeit auszufüllen. Im Anschluss (16:40 Uhr) wurde eine venöse Verweilbraunüle in die Ellenbogenvene gelegt, ein undurchsichtiges Verbindungsstück hinter eine Stellwand gelegt, hinter der sich die Medizinerin zur Blutabnahme befand und umgehend 0.9% NaCl infundierte, um die Braunüle durchgängig zu halten. Dieses Verfahren gestattete eine vom Probanden nicht registrierbare Blutentnahme.

In den sich anschließenden 35 Minuten konnte der Proband mitgebrachte Lektüre lesen und sich von der Belastung der Venipunktion erholen. Diese Wartephase ist von fundamentaler Bedeutung, da nicht nur Cortisol (ROSE & HURST, 1975), Prolaktin (FERRIANI, 1985) oder Katecholamine (WARD, MEFFORD, PARKER, CHESNEY, TAYLOR, KEEGAN & BARCHAS, 1983), sondern auch die Anzahl peripherer Lymphozyten durch Venipunktion beeinflusst werden (FERRIANI, 1985; WARD ET AL., 1983). Nach Ablauf dieser Ruhephase wurde um 17:20 Uhr eine Blutprobe erhoben, die als Ruhewert (Baseline) definiert wurde.

In der Folge wurde der Proband innerhalb der experimentellen Bedingung „Öffentliche Rede“ ausführlich instruiert. In der vorliegenden Studie wurde die Bedingung „starke Sprechangst“ mit „Publikumsöffentlichkeit“ gewählt, d.h. zunächst wurde der Proband instruiert, dass er in 10 Minuten eine Rede halten möge, wobei das

Thema erst nach Ablauf dieser Zeit (Antizipationsphase) bekannt gegeben würde (genauer Wortlaut siehe Anhang 3) und dass er diese Wartezeit mit Lesen verbringen könne. Der Versuchsperson wurde gesagt, dass ihre Rede über eine Videokamera in einen Nachbarraum übertragen werde, in dem sechs Experten die Rede nach formalen und inhaltlichen Kriterien auswerten würden. Im Raum befand sich eine TV-Kamera, von der aus diverse Kabel in den angrenzenden Flur bzw. Raum führten. Des weiteren befand sich im Untersuchungsraum ein Monitor, auf dem gegen Ende der Antizipationsphase das Bild des Expertengremiums eingeblendet wurde. Vor dem Probanden wurde während der Antizipationsphase eine Uhr aufgestellt, die 10 Minuten sekundengenau abwärts zählte. Dem Probanden war somit jederzeit bewusst, wann er mit der Rede beginnen sollte. Um 17:30 Uhr (nach Ablauf der Antizipationsphase) wurde die TV-Kamera eingeschaltet und eine zweite Befindlichkeitsmessung erhoben. Der Proband erhielt im Anschluss die Instruktion, sich vor dem Expertenteam hinsichtlich des von ihm während des Vortrags geäußerten „Traumberufs“ zu bewerben. Ihm wurde ferner erklärt, dass das Expertenteam nicht im Raum anwesend wäre, um nicht standardisierbare Interaktionen zwischen Proband und Begutachtern zu vermeiden. Unmittelbar nach dieser Information wurde der Monitor eingeschaltet, über den das laufende Bild der Expertengruppe übertragen wurde. Auf eine bestimmte Bewegung eines Gutachters hin trat der Versuchsleiter vor die TV-Kamera und fragte, ob mit der Rede begonnen werden könne, was von allen Gutachtern mit einem Kopfnicken bestätigt wurde. Der Proband wurde im Unklaren gelassen, dass es sich bei dem eingespielten Bild um eine Videoaufzeichnung handelte und de facto keine Begutachter im Nebenraum anwesend waren. Auf rückwirkende Befragung ist keinem der Probanden diese gestellte Situation als solche aufgefallen.

Die Rede des Probanden sollte exakt 5 Minuten lang sein. Bei drohender Überschreitung der Zeit wurden die Probanden nach genau dieser Zeit unterbrochen. Mitunter mussten die Probanden aber auch stimuliert werden, den Inhalt noch-

einmal zusammenzufassen, da sonst die Rede früher geendet hätte.

Aufgrund der bekannten Einflüsse der Körperlage auf hämodynamische und endokrine Variablen (HENNIG, FRIEBE, RYL, KRÄMER & BÖTTCHER, 2000) fanden alle Phasen des Versuches im Sitzen statt. Nach Abschluss der Rede (17:40 Uhr) wurde eine dritte Blutprobe entnommen und erneut eine Einschätzung der Befindlichkeit erhoben. Zwei weitere Blutentnahmen und Befindlichekeiterfassungen fanden um 18:00 Uhr sowie um 18:20 Uhr statt. Anschließend wurde dem Probanden die Braunüle gezogen und die Vergütung von DM 100.00 ausgezahlt.

Alle Blutproben mit Ausnahme derjenigen für die Durchflusszytometrie (4ml EDTA) wurden unmittelbar nach ihrer Entnahme weiterverarbeitet. Das EDTA - Blut wurde zur Gewinnung von Plasma für 10 Minuten bei 3000g zentrifugiert. Anschließend wurden jeweils 300 μ l auf gekühlte Eppendorf-Gefäße pipettiert, so dass je Meßzeitpunkt 7 Reaktionsgefäße angelegt werden konnten und später bei der Bestimmung der einzelnen Parameter auf wiederholtes Auftauen verzichtet werden konnte. Diese wurde unmittelbar danach bei -80 C eingefroren. Die Entnahmesysteme für Serumproben (Monovetten) wurden zunächst für 20 Minuten stehengelassen. Danach fand eine Zentrifugation und Umpipettierung in Eppendorf-Gefäße analog zum Vorgehen für Plasma - Proben statt. Die Vollblutproben für die Durchflusszytometrie wurden nach der letzten Blutentnahme umgehend in das Hämatologische Labor der Universitätsklinik gebracht und dort sofort weiterverarbeitet.

Zur Veranschaulichung des Versuchsablaufes sei Abbildung 3 gegeben:

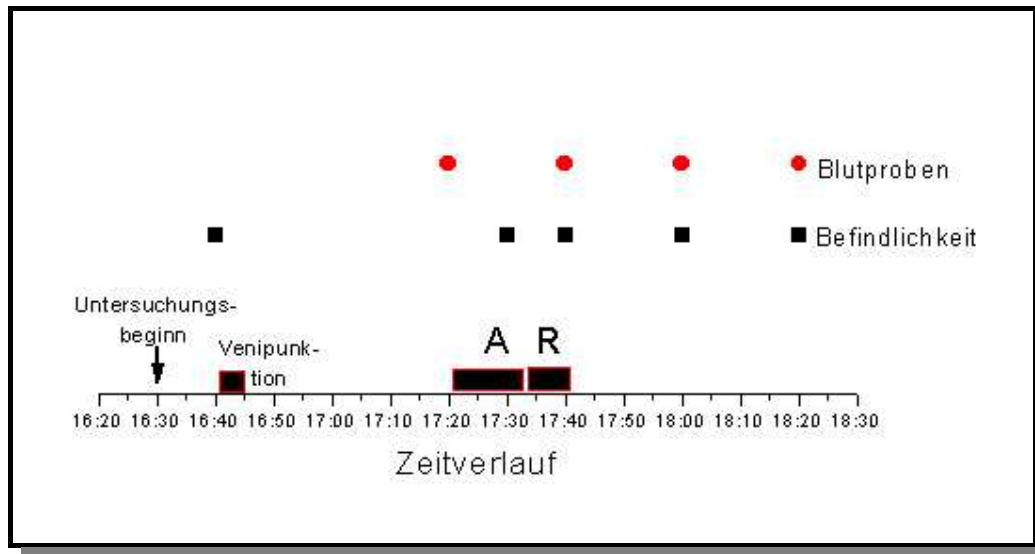


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Untersuchungsablaufs im Paradigma der „Öffentlichen Rede“ (A= Antizipationsphase; R= Redephase).

2.6 Statistische Verfahren

Zur Prüfung der Frage nach anhaltenden Effekten von Dexamethason auf hormonelle und immunologische Maße wurden t-Tests für unabhängige Stichproben (Placebo vs. Dexamethason) für den Ruhewert (17:20 Uhr) berechnet.

Zur Prüfung der Frage der Belastungseffekte auf subjektive (Befinden) und objektive (endokrinologisch und immunologisch) Parameter wurde für Cortisol, die Katecholamine sowie die Anzahl von Lymphozyten und peripheren CD3+, CD19+, CD4+ und CD8+ Zellen zweifaktorielle (Stress vs. Kontrolle) (Verlauf) Kovarianzanalysen (Kovariate = Wert vor Antizipationsphase) mit Messwiederholung gerechnet.

Da aus Kostengründen für die Katecholamine und peripheren NK-Zellen auf die Bestimmung der Werte aus der Non-Stress-Gruppe verzichtet werden musste, liegt der Prüfung dieser Effekte eine Kovarianzanalyse (Kovariate = Wert vor Antizipationsphase) für wiederholte Messungen ohne Gruppenfaktor (Stress-

Nonstress) zugrunde.

Der Einfluss der Behandlung durch Dexamethason auf belastungsinduzierte Hormonausschüttungen, Befindlichkeitsänderungen und die Zellmigration wurde mittels dreifaktorieller Kovarianzanalysen (Stress - Nonstress, Placebo-Dexamethason, Verlauf) für Messwiederholungen gerechnet, wobei analog zum zuvor beschriebenen Vorgehen für Katecholamine und den Anteil peripherer CD56+ Zellen zweifaktorielle Analysen gerechnet wurden. Der häufig auftretenden Verletzung der Sphärizitätsannahme im Meßwiederholungsdesign wurde im Auftretensfall über eine Greehouse - Geisser- Korrektur Rechnung getragen. Alle Effekte wurden trotz gerichteter Hypothesen zweiseitig getestet und bei $p < .05$ als signifikant bzw. sehr signifikant ($p < .01$) bezeichnet. Des weiteren wurden ergänzend zur Signifikanzwerten auch Effektstärken (η^2) berechnet. Diese Werte geben an, in welchem Ausmaß die Varianz durch einen bestimmten Effekt (Haupteffekt oder Interaktionen) erklärt werden kann. Die Effektstärke (η^2) variiert zwischen 0 und 1.

3. Ergebnisse

Bevor auf die Ergebnisse zur zentralen Hypothese einer durch Blockade der Cortisolantwort induzierten Reduktion von homing im Paradigma der "Öffentlichen Rede" eingegangen wird, sollen zunächst die unter 1.2 aufgestellten Untersuchungsprämissen statistisch geprüft werden. Nur unter den angenommenen Voraussetzungen lassen sich die möglichen Effekte der Cortisolblockade unter Stress sinnvoll interpretieren.

Prämisse	Inhalt	Begründung
1	Die Konfrontation mit der Situation "Öffentliche Rede" muss als belastend erlebt werden.	Die der Untersuchung zugrundeliegende Fragestellung bezieht sich auf psychische Belastung.

Ausgehend von der unter 2.4.1 beschriebenen Faktorenstruktur des zugrundeliegenden Fragebogens zur situativen Befindlichkeit können die Faktoren "angenehme Aktivierung" und "Erregung / Verspannung" zur Prüfung dieser Prämisse herangezogen werden. Die folgende Abbildung 4 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler für die Einschätzungen der Aktivierung (Faktor I) und solche der Erregung / Belastung (Faktor II).

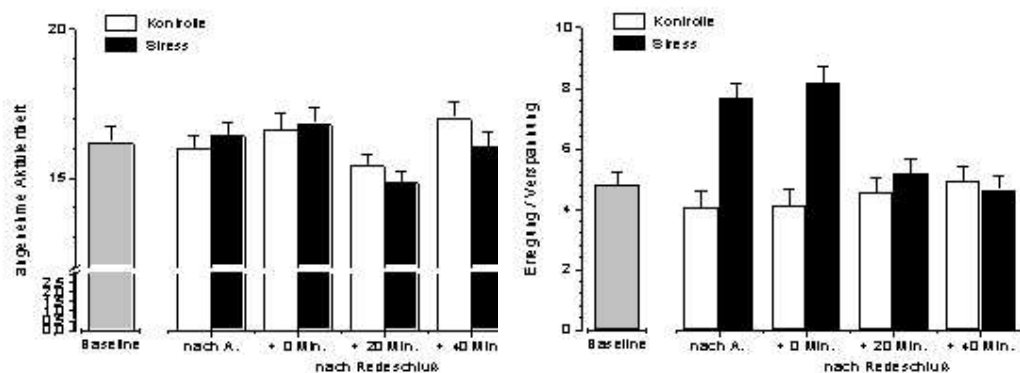


Abbildung 4: Mittelwerte und Standardfehler der Einschätzung von "angenehmer Aktiviertheit" (links) und "Erregung / Verspannung" (rechts).

Es wird deutlich, dass sich Veränderungen in den Einschätzungen der Aktivierung (Faktor I) zwischen Experimentalgruppe (Stress) und Kontrollgruppe nicht ändern. Es liegt zwar ein signifikanter Verlaufseffekt vor ($F=10.21$; $df=1.67, 144$; $p<.001$; $\eta^2=.12$), der wohl über die beobachtbare Deaktivierung zum vorletzten Zeitpunkt erklärbar ist, eine Interaktion mit der experimentellen Bedingung ist aber nicht signifikant ($F=1.71$; $df=1.67, 144$; $p=n.s.$; $\eta^2=.027$). Des gleichen liegt kein signifikanter Haupteffekt für die experimentelle Bedingung vor ($F=1.40$; $df=1, 72$; $p=n.s.$; $\eta^2=.01$). Zusammenfassend kann hinsichtlich der subjektiven Aktivierung festgehalten werden, dass PS keinen Einfluss ausübt. Im Gegensatz dazu verändern sich die Einschätzungen der Erregung / Belastung sehr deutlich. Im Gegensatz zur subjektiven Aktivierung liegt zwar kein Effekt für den reinen, d.h. von der Stressbedingung unabhängigen, Verlauf vor ($F=1.26$; $df=1.76, 144$; $p=n.s.$; $\eta^2=.01$), die Interaktion mit der experimentellen Bedingung erreicht jedoch ein hohes Maß an statistischer Signifikanz ($F=17.18$; $df=1.76, 144$; $p<.0001$; $\eta^2=.19$). Auch aus der Abbildung 4 wird deutlich, dass die Einschätzungen auf diesem Faktor nach Abschluss der Antizipations- und der Redephase deutlich höher als in der Kontrollgruppe ausfallen. Das Ausmaß des Unterschieds führt dann auch zu einem tendenziell signifikanten Haupteffekt ($F=3.54$; $df=1, 72$; $p=.06$; $\eta^2=.04$) obgleich sich für die letzten beiden Messzeitpunkte keinerlei Gruppenunterschiede mehr ergeben. Zusammenfassend kann also hinsichtlich der 1. Prämisse festgehalten werden:

PS führt auch in dieser Studie zu einem starken Anstieg der subjektiven Erregung / Verspannung und erfüllt damit die Anforderungen an eine psychisch belastende Situation.

Eine weitere wichtige Voraussetzung zur Prüfung der für diese Arbeit zentralen Fragestellung ist in der folgenden Prämisse aufgestellt worden:

Prämisse	Inhalt	Begründung
2	Der Stressor muss zu einer Aktivierung des Sympathikus (hier: Katecholaminanstiegen) führen.	Die Literatur legt nahe, dass die <i>Anstiege</i> peripherer Lymphozytenanzahlen katecholaminerg vermittelt sind.

In der Einleitung ist dargestellt worden, dass die Initiierung der stressbedingten Leukozytose katecholaminerg vermittelt zu sein scheint. Da Noradrenalin- und Adrenalinanstiege im Paradigma der öffentlichen Rede mehrfach berichtet wurden, ist auch für diese Studie davon auszugehen, dass entsprechende Veränderungen vorliegen. Abbildung 5 zeigt die Veränderungen beider Katecholamine in Abhängigkeit von der experimentellen Bedingung.

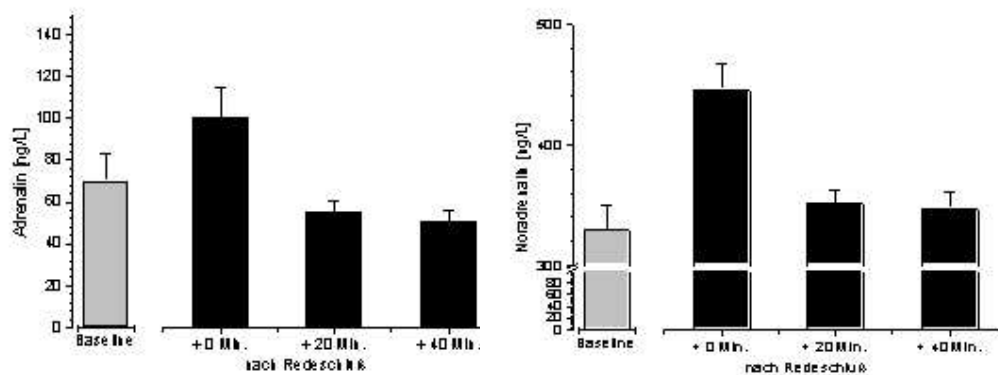


Abbildung 5: Mittelwerte und Standardfehler für Adrenalin (links) und Noradrenalin (rechts) vor und nach der Stressbelastung durch PS.

Aus Abbildung 5 ist ersichtlich, dass PS zu einer starken Aktivierung der Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin führt. Unmittelbar nach der Rede können deutliche Konzentrationsanstiege beider Hormone aufgezeigt werden, die jedoch sehr rasch (innerhalb von nur 20 Minuten) auf die Ausgangswerte zurückfallen. Für Adrenalin ($F=4.61$; $df=1, 28$; $p<.05$; $\eta^2=.14$) und Noradrenalin ($F=32.58$; $df=1, 28$; $p<.0001$; $\eta^2=.52$) ist die Effektstärke jedoch sehr unterschiedlich. Die angegebenen Statistiken belegen deutlich, dass PS in weitaus stärkerem Ausmaß zu einer Noradrenalinausschüttung führt, während die Adrenalinaus-

schüttung im Vergleich hierzu eher geringfügig ansteigt. Dennoch kann bezogen auf die in Prämisse 2 geforderten Ergebnisse festgehalten werden:

PS führt auch in dieser Studie zu starken Anstiegen der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin. Es kann daher erwartet werden, dass die Katecholaminveränderungen zur einer Mobilisierung von Lymphozyten unter Stress führen.

Veränderungen der Katecholamine können also als Voraussetzung für die in der dritten Prämisse formulierten Veränderungen peripherer Lymphozytensubpopulationen herangezogen werden. Die der Arbeit zugrundeliegende Fragestellung nach dem Einfluss einer Cortisolblockade auf das Redistributionsverhalten peripherer Lymphozytensubpopulationen geht implizit davon aus, dass eine Migration stressbedingt überhaupt stattgefunden hat. Diese für die Beantwortung der Fragestellung notwendige Voraussetzung war Gegenstand der 3. Prämisse:

Prämisse	Inhalt	Begründung
3	Die Anzahl peripherer Lymphozytensubpopulationen sollte sich stressbedingt erhöhen (insb. NK-Zellen und CD8+Zellen).	Voraussetzung für eine Prüfung des verminderten Homings durch Cortisolblockade ist eine initiale Anhebung der Anzahl von Lymphozyten im peripheren Blut.

Die folgende Abbildung 6 zeigt zunächst die stressbedingten Veränderungen der absoluten Anzahl von Lymphozyten. Statistisch betrachtet, kann nicht nur ein signifikanter Verlaufseffekt demonstriert werden ($F=5.70$; $df=1.38$; $p<.05$; $\eta^2=.07$), sondern auch - und dies ist von größerer Bedeutung - eine hoch signifikante Interaktion zwischen Stressbedingung und Verlauf ($F=27.4$; $df=1.38$; $p<.0001$; $\eta^2=.28$). Unmittelbar nach der Rede zeichnet sich ein deutlicher Anstieg der Lymphozytenanzahl im peripheren Blut ab, so dass man auch in dieser Studie den häufig beschriebenen Befund einer milden Lymphozytose nach Stress vorfinden kann.

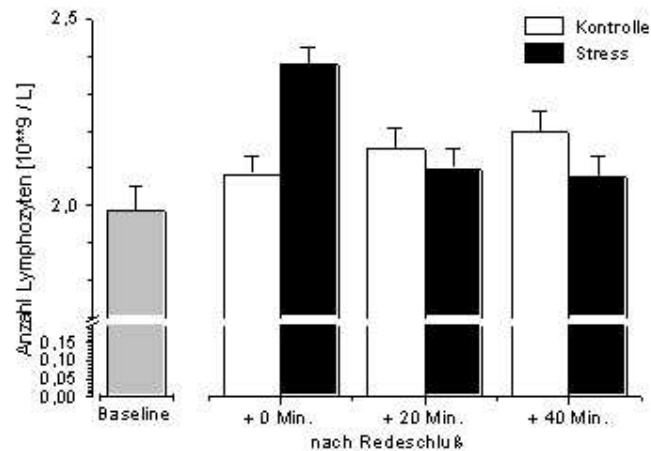


Abbildung 6: Mittelwerte und Standardfehler für die absolute Anzahl von Lymphozyten in Abhängigkeit vom Verlauf und der Gruppenzugehörigkeit (Stress vs. Kontrolle)

Die Frage, die sich an diesen Befund anschließt, bezieht sich auf die Subpopulationen von Lymphozyten, die laut Literatur sehr unterschiedlich auf Stress ansprechen. In den folgenden Abbildung (7-9) sind daher die jeweiligen Veränderungen der CD3+, CD19+, CD4+, CD8+ und CD56+ Zellen dargestellt, bevor statistische Kennwerte gegeben werden.

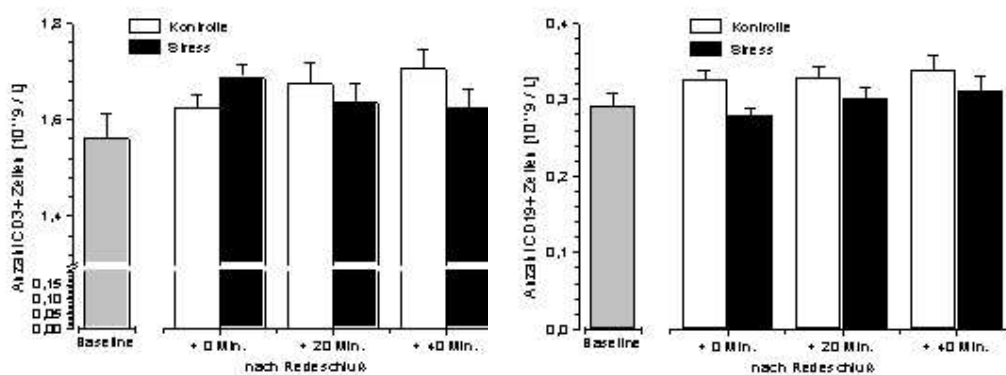


Abbildung 7: Mittelwerte und Standardwerte der Veränderung von CD3+ (links) und CD19+ Zellen (rechts) in Abhängigkeit vom Verlauf und der Gruppenzugehörigkeit.

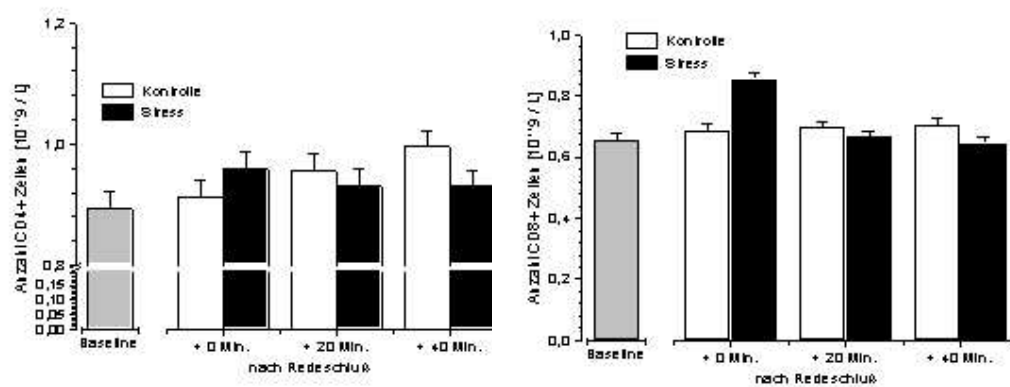


Abbildung 8: Mittelwerte und Standardfehler der absoluten Anzahl von CD4+ (links) und CD8+ Zellen (rechts) in Abhängigkeit von der experimentellen Bedingung (Stress vs. Kontrolle) und dem Verlauf.

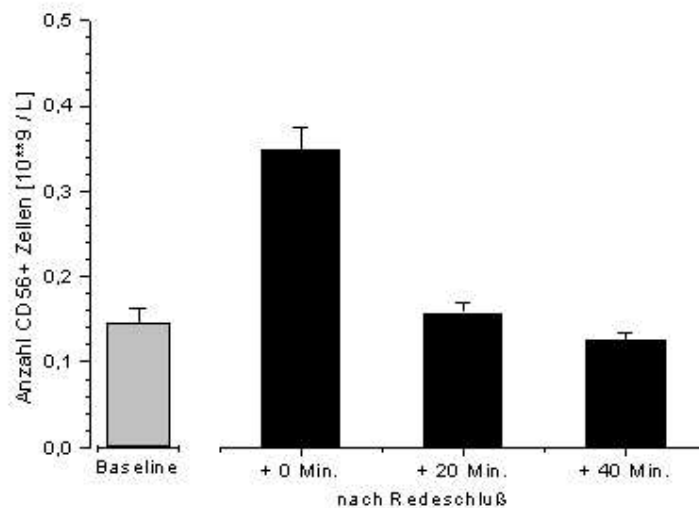


Abbildung 9: Mittelwerte und Standardfehler der absoluten Anzahl peripherer CD56+ Zellen vor (Baseline) und nach einer öffentlichen Rede.

Die Ergebnisse belegen deutlich, dass innerhalb der Lymphozyten die Subpopulationen der CD8+ Zellen und diejenige der CD56+ Zellen am deutlichsten auf die Belastung ansprechen. Im Falle der CD3+ Zellen läßt sich nicht nur ein signifikanter Verlaufseffekt erfassen ($F=6.87$; $df=1.40, 134$; $p<.01$; $\eta^2=.09$), der als Ten-

denz einer ansteigenden Zellzahl über die Zeit (ungeachtet der experimentellen Bedingung) interpretiert werden kann, sondern auch eine hochsignifikante Interaktion zwischen Verlauf und Bedingung ($F=5.40$; $df=1.40, 132$; $p<.01$; $\eta^2=.07$) im Sinne einer stressbedingten Anhebung der Zellzahl, die jedoch im weiteren Verlauf unter diejenige der Kontrollgruppe fällt. Hier könnte sich bereits ein Effekt hinsichtlich der stressbedingten Gegenregulation abzeichnen. Periphere B-Zellen (CD19+) zeigen zwar auch einen signifikanten Verlaufseffekt ($F=4.17$; $df=1.44, 134$; $p<.05$; $\eta^2=.05$) jedoch keinerlei signifikante Beeinflussung durch die Stressexposition ($F=.99$; $df=1.44, 134$; $p=n.s.$; $\eta^2=.01$). Hypothesenkonform verändern sich demnach Populationen des T-Zellsystems offensichtlich stärker als B-Zellen. Bei genauerer Betrachtung läßt sich dies in der Tat auch für periphere CD8+ Zellen statistisch nachweisen. Während für diese Zellpopulation keinerlei Verlaufseffekt aufgezeigt werden kann, liegt jedoch eine Interaktion zwischen Verlauf und experimenteller Bedingung in überaus deutlichem Ausmaß vor ($F=37.1$; $df=1.38, 134$; $p<.00001$; $\eta^2=.35$). Unmittelbar nach der Rede kommt es zu einem deutlichen Anstieg der peripheren CD8+ Zellen, der jedoch - wie erwartet - nur von geringer Dauer ist. Der Effekt ist derart stark, dass er immerhin 35% der Gesamtvarianz aufklärt. CD8+ Zellen sind damit voraussichtlich diejenigen, die besonders stark an der Lymphozytose nach Stress beteiligt sind. Im Gegensatz dazu verändert sich die Anzahl peripherer CD4+ Zellen zwar auch im Sinne eines kurzfristigen Anstiegs nach Stress ($F=6.03$; $df=1.58, 134$; $p<.01$; $\eta^2=.08$); der Effekt ist aber weitaus geringfügiger verglichen mit demjenigen für CD8+ Zellen. Diejenige Population, die hinsichtlich ihrer absoluten Anzahl am deutlichsten verändert ist, ist jedoch die Fraktion peripherer Natürlicher Killerzellen (CD56+). Unmittelbar nach der Belastung kann man einen dramatischen Anstieg beobachten, der auch hinsichtlich der Effektstärke (57%) von überragender Deutlichkeit ist ($F=56.9$; $df=1, 42$; $p<.00001$; $\eta^2=.57$). Hiermit kann die Mobilisierbarkeit von peripheren CD56+ Zellen eindeutig als überragend eingestuft werden.

PS führt auch in dieser Studie zu einer milden Lymphozytose, die in erster Linie durch starken Anstiegen der Anzahl der peripheren CD8+ und CD56+ Zellen erklärt werden kann.

Die folgende Prämisse bezieht sich auf eine weitere, notwendige Voraussetzung zur Prüfung der Hauptfragestellung:

Prämisse	Inhalt	Begründung
4	Der Stressor muss (innerhalb der Placebobedingung) zu einer Cortisolantwort führen.	Cortisolanstiege werden als wichtiger Faktor zur Regulation von homing angesehen.

Voraussetzung zur Prüfung der Frage, ob eine Blockade der Cortisolausschüttung unter Stress Einfluss auf das Redistributionsverhalten peripherer Lymphozyten ausübt, ist natürlich die Veränderung der Cortisolkonzentrationen durch Stress. Die folgende Abbildung 10 zeigt, dass in der Tat eine starke Freisetzung des Nebennierenrindenhormons als Folge der psychischen Belastung eintritt.

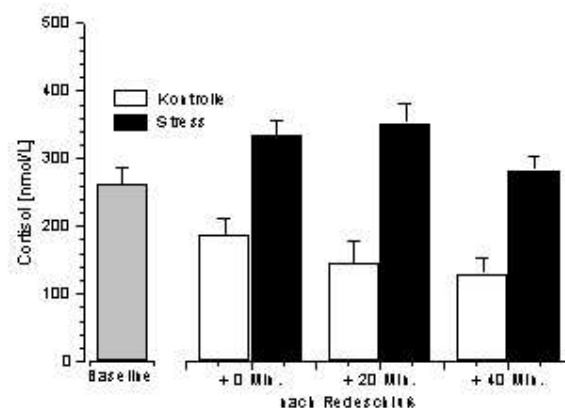


Abbildung 10: Mittelwerte und Standardfehler der Cortisolkonzentrationen innerhalb der Stress- und Kontrollbedingung für die Gruppe ohne Dexamethasonbehandlung.

Während sich für die Kontrollgruppe der zu erwartende zircadiane Verlauf abzeichnet, reagieren Probanden der Experimentalgruppe mit sehr deutlichen Hormonanstiegen nach Ende der Rede, die bis zum Ende des Experimentes oberhalb der Spiegel der Kontrollgruppe liegen. Aufgrund der Tatsache, dass zu allen Messzeitpunkten erhöhte Cortisolkonzentrationen innerhalb der Experimentalgruppe vorliegen, ist eine signifikante Interaktion mit dem Verlauf nicht zu erwarten. Diese Ergebnislage führt daher zu einem hochsignifikanten Haupteffekt der experimentellen Bedingung ($F=26.7$; $df=1$; $p<.0001$; $\eta^2=.44$). Die Gesamtvarianz der Cortisolwerte kann zu 44% durch die experimentelle Bedingung erklärt werden !

PS führt auch in dieser Studie zu starken Anstiegen der Cortisolkonzentrationen und erfüllt damit die Voraussetzungen, Mechanismen der Cortisolblockade unter Stress hinsichtlich des Homings von Lymphozyten zu prüfen.

Der zweite Komplex der Prüfung notwendiger Prämissen bezieht sich auf die Art und Weise, wie in dieser Studie die Cortisolantwort blockiert wurde. Dexamethason hat als synthetisches Glukokortikoid selbst einen temporären Einfluss auf Leukozyten. Es ist daher wichtig, vorab Prämissen 5 zu prüfen:

Prämisse	Inhalt	Begründung
5	Dexamethason sollte keinen Einfluss auf die Anzahl peripherer Lymphozyten, Katecholaminspiegel oder Befindlichkeitsangabe zu Stressbeginn ausüben.	Wichtig hinsichtlich möglicher Unterschiede in der Glukokorticoidsensitivität von Lymphozyten sind gleiche Ausgangsvoraussetzungen für Personen mit und ohne Cortisolsuppression.

Prämisse 5 wurde mittels t-Test für unabhängige Stichproben geprüft, wobei als Gruppenfaktor die Medikation am Vorabend und die in Prämissen 5 aufgezeigten Parameter als abhängige Variable definiert waren.

Tabelle 5: Mittelwerte \pm Standardfehler, t-Werte und Signifikanzniveau hormoneller, immunologischer und subjektiver Parameter in Abhängigkeit von der am Vorabend (-18 Stunden) gewählten Medikation (1.5 mg Dexamethason vs. Placebo).

Parameter	Placebo	Dexamethason	T	p
Lymphozyten [10 ⁹ /L]	1.89 \pm 0.41	2.07 \pm 0.62	-1.52	n.s.
CD3+ Zellen [10 ⁹ /L]	1.46 \pm 0.30	1.65 \pm 0.50	-1.85	n.s.
CD19+ Zellen [10 ⁹ /L]	0.27 \pm 0.12	0.30 \pm 0.15	-1.07	n.s.
CD4+ Zellen [10 ⁹ /L]	0.88 \pm 0.18	0.91 \pm 0.27	-0.41	n.s.
CD8+ Zellen [10 ⁹ /L]	0.65 \pm 0.22	0.73 \pm 0.26	-1.24	n.s.
CD56+ Zellen [10 ⁹ /L]	0.17 \pm 0.14	0.12 \pm 0.08	1.48	n.s.
Adrenalin [ng/L]	89.41 \pm 85.3	44.65 \pm 30.91	1.79	n.s.
Noradrenalin [ng/L]	339.29 \pm 132.57	318.21 \pm 75.28	0.52	n.s.
Aktiviertheit	17.16 \pm 0.46	15.35 \pm 4.34	1.76	n.s.
Erregung / Ver- spannung	5.29 \pm 4.45	6.60 \pm 4.83	-1.22	n.s.

Aus Tabelle 5 geht deutlich hervor, dass Dexamethason in einer Dosierung von 1.5 mg 18 Stunden nach Einnahme keinerlei Einfluss (mehr) auf die Anzahl peripherer Lymphozytensubpopulationen, Katecholaminkonzentrationen oder Angaben zur Befindlichkeit ausübt. Hiermit ist eine wichtige weitere Voraussetzung gegeben, obgleich gezeigt werden muß, dass Dexamethason auch nach dieser Zeitspanne die Cortisolkonzentrationen weiterhin reduziert. In der folgenden Abbildung 11 sind die Rohwerte der Cortisolkonzentrationen zu Beginn des Experimentes dargestellt.

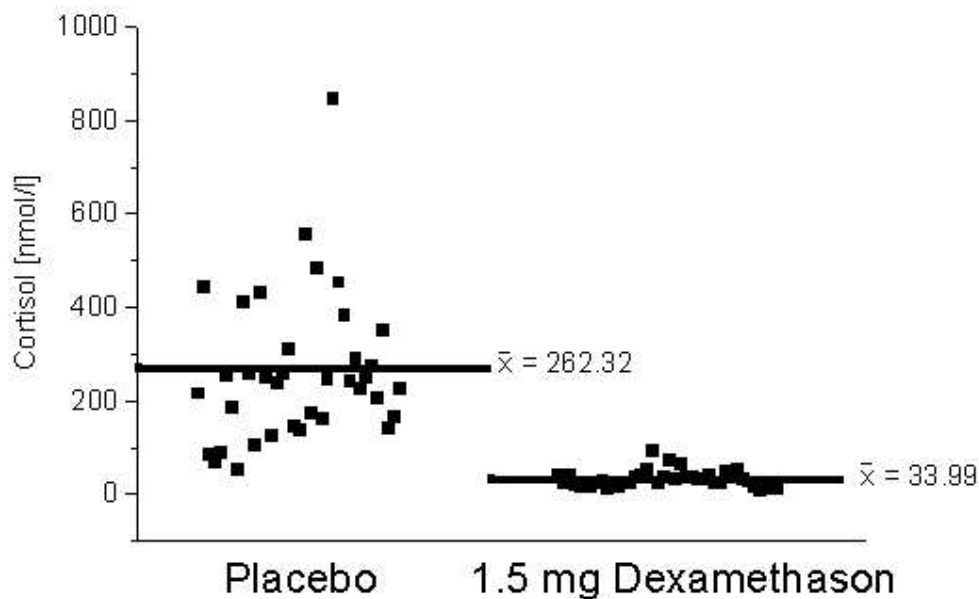


Abbildung 11: Rohwerte der Cortisolkonzentrationen [nmol/L] für die Gruppe der Probanden unter Dexamethason vs. Placebo. Die Cortisolwerte sind erhoben zum Zeitpunkt vor Beginn der Antizipationsphase, also mehr als 18 Stunden nach Einnahme von Dexamethason.

Abbildung 11 zeigt, dass die Dosierung von 1.5 mg Dexamethason *durchweg* zu einer Suppression der Cortisolausgangswerte auch noch 18 Stunden nach Applikation führt. Der Mittelwertsunterschied fällt entsprechend hoch signifikant aus ($t=9.04$; $p<.00001$).

Dexamethason übt auch noch 18 Stunden nach Einnahme erwartungsgemäß eine deutliche Suppression der Cortisolspiegel aus, während hinsichtlich der Anzahl lymphoider Zellen, der Konzentration der Katecholamine und der subjektiven Befindlichkeit keine Effekte (mehr) nachweisbar sind.

Prämisse	Inhalt	Begründung
6	Dexamethason sollte keinen Einfluss auf Katecholaminveränderungen oder Befindlichkeitsangaben unter Stress ausüben.	Die Phase der initialen Stimulierung von Migrationsverhalten sollte nicht durch die Cortisolblockade beeinflusst sein. Des weiteren sollte das Ausmaß der subjektiven Belastung unter Cortisolblockade dem unter Placebobehandlung entsprechen.

Aufgrund der Tatsache, dass der Einfluss einer Cortisolblockade in erster Linie auf die Redistribution lymphoider Zellen angenommen wurden, sollte die bereits beschriebene, stressinduzierte Anhebung der Katecholaminkonzentrationen innerhalb der Placebo- und Dexamethasonbehandlung gleich sein. Des weiteren wäre zu fordern, dass auch Veränderungen des stressbedingten subjektiven Befindens nicht von der Art der Vorbehandlung abhängen sollte. Die folgenden Abbildungen beschreiben die Befunde für Adrenalin und Noradrenalin (Abb. 12) sowie für die Dimension der Aktivierung und Erregung / Verspannung (Abb. 13).

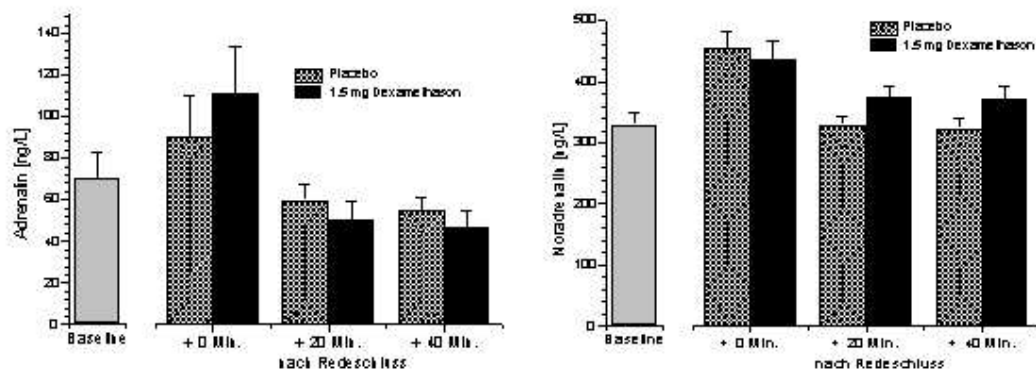


Abbildung 12: Mittelwerte und Standardfehler der Adrenalin- (links) und Noradrenalin-konzentrationen (rechts) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung mit Placebo vs. Dexamethason.

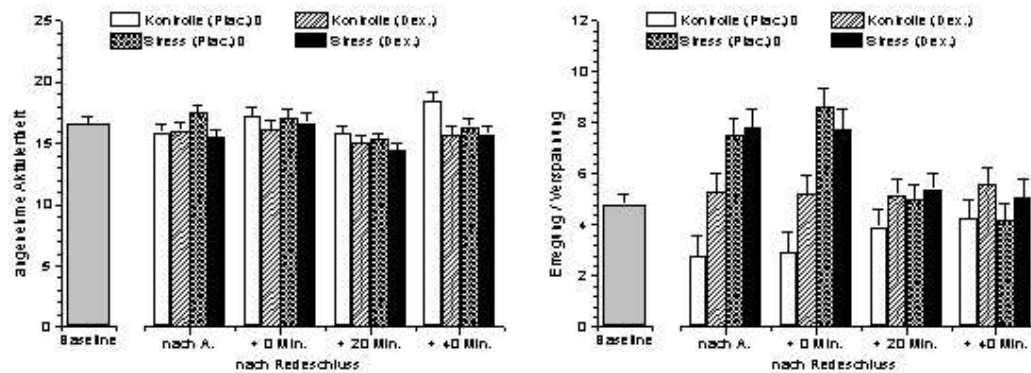


Abbildung 13: Mittelwerte und Standardfehler der subjektiven Aktiviertheit (links) und der Erregung / Verspannung (rechts) in Abhängigkeit von der experimentellen Bedingung und der Medikation vom Vorabend (Placebo vs. Dexamethason).

Die Ergebnisse bezüglich der Katecholaminausschüttung und der Befindlichkeit zeigen deutlich, dass die Behandlung mit Dexamethason keinen deutlichen Einfluss auf die zuvor beschriebenen, stressinduzierten Veränderungen dieser Parameter ausüben. Hinsichtlich der Adrenalinwerte lässt sich keine Interaktion zwischen Medikation und Verlauf nachweisen ($F=1.36$; $df=1.08, 54$; $p=n.s.$; $\eta^2=.04$) und auch der Haupteffekt für die Substanzbedingung wird nicht signifikant ($F=0.07$; $df=1, 27$; $p=n.s.$; $\eta^2=.00$). Gleiches gilt für die stressbedingten Noradrenalinveränderungen. Auch hier liegt weder ein Interaktionseffekt ($F=1.93$; $df=1.18, 56$; $p=n.s.$; $\eta^2=.06$) noch Haupteffekt ($F=1.34$; $df=1, 28$; $p=n.s.$; $\eta^2=.04$) statistisch nachweisbar vor. Auch die stressbedingten Veränderungen der Befindlichkeit sind nicht durch Dexamethason verändert. Im Falle der Aktiviertheit, die ja auch nicht stressbedingt verändert war und auch für die Erregung / Verspannung bleiben Interaktions- und Haupteffekt insignifikant.

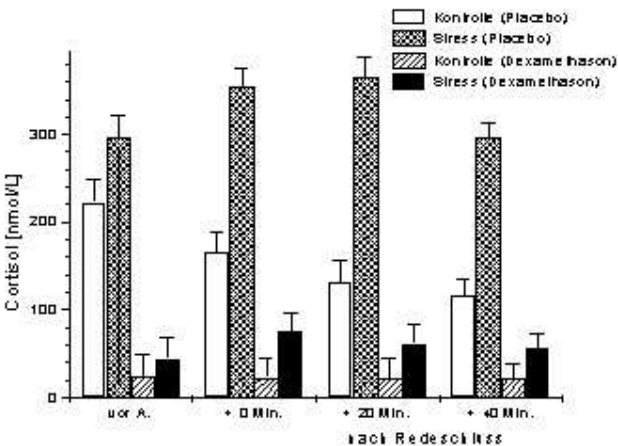
Dexamethason hat keinen Einfluss auf die stressbedingte Ausschüttung von Katecholaminen und die Veränderungen der subjektiven Befindlichkeit unter Stress.

Eine letzte, wesentliche Prämisse zur sinnvollen Prüfung der Hauptfragestellung muss noch erfüllt sein. Zur Demonstration des Einflusses einer über Dexamethason induzierten Blockade der Cortisolantwort auf das Redistributionsverhalten peripherer Lymphozyten muss gewährleistet sein, dass die Cortisolkonzentrationen unter Dexamethason auch nach Stress reduziert bleiben. Mit anderen Worten könnten Probanden, die die Dexamethasonblockade durchbrechen, nicht für die Analyse der eigentlichen Fragestellung herangezogen werden.

Prämisse	Inhalt	Begründung
7	Unter Dexamethason sollte die Stress-induzierte Cortisolantwort ausbleiben.	Die Reduktion der Cortisolantwort unter Stress ist die Voraussetzung zu Prüfung des Hormoneinflusses auf homing

Die folgenden Abbildung 14 demonstriert, dass mit Dexamethason vorbehandelte Probanden keine Cortisolantwort auf Stress zeigen. Dexamethason in der Dosierung von 1.5 mg ist nicht nur mit einer Reduktion der basalen Cortisolspiegel 18 Stunden nach Einnahme verbunden (s.o.) sondern auch in der Lage, eine Stressantwort auf einen so potenten Stressor wie PS zu unterbinden.

Abbildung



14: Mittelwerte und Standardfehler der Cortisolkonzentration in Abhängigkeit von

der Stress-
resp. Sub-
stanzbedin-
gung und dem
Verlauf.

Statistisch betrachtet liegt neben den bereits beschriebenen Befunden zum Einfluss von Dexamethason und Stress noch die bedeutsame dreifach-Interaktion zwischen Verlauf, experimenteller Bedingung und Medikation vor ($F=4.41$; $df=1.88$; $p<.01$; $\eta^2=.05$), die indiziert, dass sich die Cortisolkonzentrationen nach der Rede innerhalb der Placebobedingung statistisch signifikant verändern, während dies unter Dexamethason nicht der Fall ist.

Eine Blockade der Cortisolausschüttung mittels 1.5 mg Dexamethason wird im Zuge der Belastungssituation „public speaking“ (bei gesunden Probanden) nicht durchbrochen.

Mit diesem Befund können alle zuvor aufgestellten Prämissen als gegeben angesehen werden, womit einer sinnvollen Prüfung der eigentlichen Fragestellung nichts mehr im Wege steht.

Es wurde erwartet, dass

mit einer Blockade der endogenen Cortisolausschüttung unter psychischer Belastung (PS) die katecholaminerg vermittelte Erhöhung der Anzahl von CD8+ und CD56+ Zellen im Blut nicht zurückreguliert wird und somit auch nach Abschluss der Belastungsphase erhöhte Werte für diese Zellen vorliegen.

Die folgenden Abbildungen 15-17 zeigen zunächst die Veränderung der Anzahl peripherer CD8+ und CD56+ Zellen in Abhängigkeit von der Belastungs- und Behandlungsbedingung. Nach Darstellung der Befunde werden die Ergebnisse auch hinsichtlich statistischer Parameter näher erläutert.

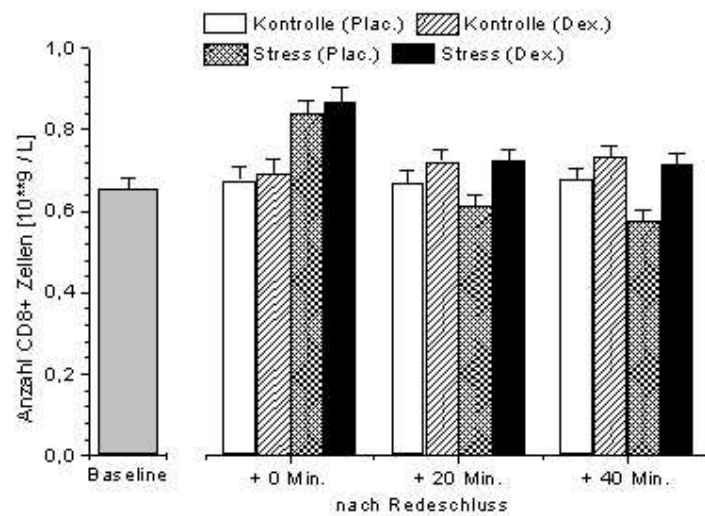


Abbildung 15: Mittelwerte und Standardfehler der Anzahl peripherer CD8+ Zellen hinsichtlich der experimentellen Bedingung und der Vorbehandlung.

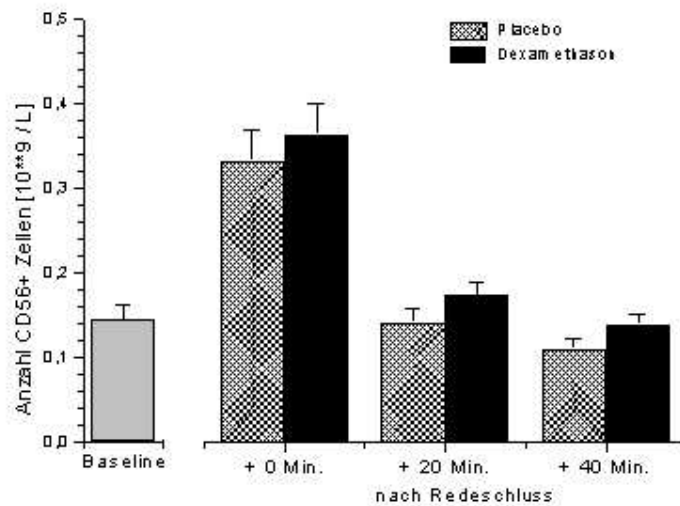


Abbildung 16: Mittelwerte und Standardfehler der Anzahl CD56+ Zellen in Abhängigkeit von der

Vorbehandlung mit Placebo oder Dexamethason zu verschiedenen Zeitpunkten
im Paradigma der „Öffentlichen Rede“.

Bei Betrachtung von Abbildung 15 fällt auf, dass die voraussichtlich katecholaminerg vermittelte Anhebung der Anzahl peripherer CD8⁺ Zellen unmittelbar nach Abschluss der Rede innerhalb der Placebo- und Dexamethasonbedingung gleich stark ausfällt. Von für die vorliegende Arbeit jedoch entscheidender Bedeutung ist die Tatsache, dass bei gleicher Aktivierung der Zellmigration die Anzahl peripherer CD8⁺ nach Dexamethasonbehandlung innerhalb der Belastungsgruppe weniger deutlich zurückreguliert wird. Die folgende Abbildung 17 (ohne Kontrollgruppe) verdeutlicht dies.

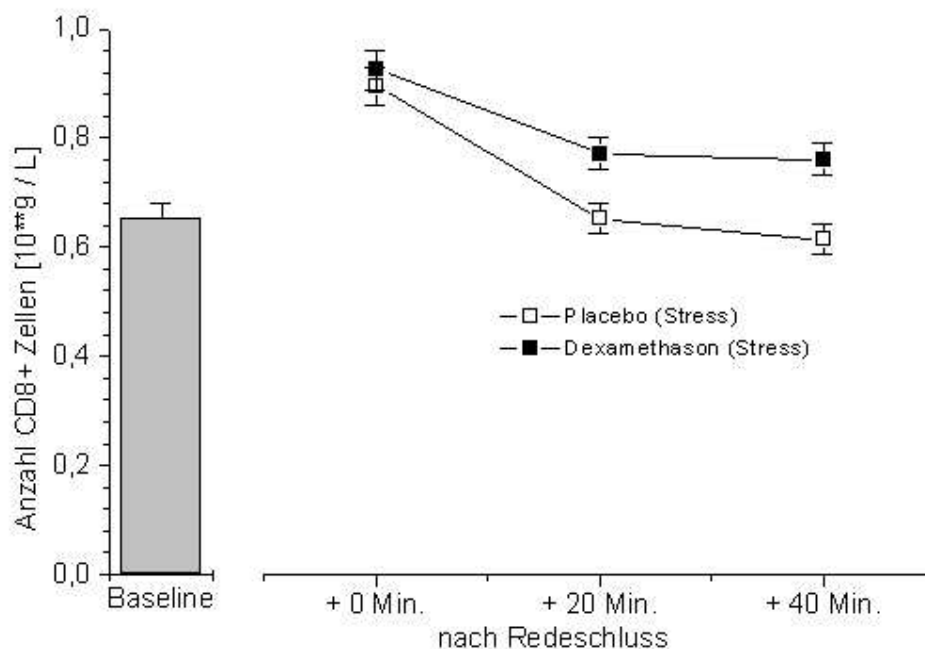


Abbildung 17: Mittelwerte und Standardfehler der Anzahl peripherer CD8⁺ Zellen nach mentaler Belastung mit und ohne Vorbehandlung durch Dexamethason.

Es ist deutlich zu sehen, dass ganz gemäß der zugrundeliegenden Theorie und Hypothese, eine Blockade der endogenen Cortisolausschüttung unter Stress mit einer verzögerten oder sogar unterbleibenden Rückregulation peripherer Lymphozytensubpopulationen verbunden ist. Da in der Folge mangelnder Rückregulation

beide post-Stresswerte erhöht bleiben, weist die statistische Analyse auch keinen Interaktionseffekt zwischen Behandlung, Bedingung und Verlauf, sondern einen starken Haupteffekt für den Substanzfaktor aus ($F=6.89$; $df=1, 67$; $p<.01$; $\eta^2=.09$).

Im Gegensatz zu der Rolle einer stressbedingten Cortisolantwort hinsichtlich der Auslenkung peripherer CD8+ Zellzahlen, lässt sich trotz markanter Belastungseffekte diese regulatorische Funktion für CD56+ Zellen nicht nachweisen. Aus Abbildung 16 geht eindeutig hervor, dass die Rückregulation der erhöhten Anzahl peripherer CD56+ Zellen nach Redeende nicht differentiell hinsichtlich der Vorbehandlung beeinflusst wird. Statistisch betrachtet liegt weder Interaktions- ($F=.04$; $df=1.12, 40$; $p=n.s.$; $\eta^2=.00$) noch Haupteffekt ($F=1.23$; $df=1, 40$; $p=n.s.$; $\eta^2=.03$) in auch nur annähernd signifikantem Ausmaß vor.

Eine Blockade der Cortisolausschüttung mittels 1.5 mg Dexamethason hat keinen Einfluss auf die Redistribution katecholaminerg erhöhter Anzahlen peripherer CD56+ Zellen.

Die endogene Cortisolausschüttung unter Stress ist aber offensichtlich von grundsätzlicher Bedeutung für die Redistribution Stress-induzierter Anstiege von peripheren CD8+ Zellen. Eine Blockade der endogenen Cortisolausschüttung mittels Dexamethason resultiert in einer erhöhten Anzahl peripherer CD8+ Zellen auch nach Abschluss der Belastung, während diese Zellen unter Placebo (d.h. endogener Cortisolausschüttung) offensichtlich „homing“-Verhalten gezeigt haben.

4. Diskussion

4.1 Vorbemerkung

Die vorliegende Arbeit dient der Beantwortung der Frage, ob Glukokortikoide an der Redistribution peripherer Lymphozyten nach Stress beteiligt sind. Obgleich die Literatur sehr deutlich aufzeigt, dass eine stressinduzierte Lymphozytose katecholaminerg vermittelt ist, lag bislang keine Arbeit vor, die sich dem raschen Prozess der Rückregulation („homing“) zugewendet hat. Aus diversen pharmakologischen und physiologischen Studien war bekannt, dass erhöhte Spiegel von Glukokortikoiden (z.B. Cortisol) zu einer milden Lymphopenie führen (FAUCI & DALE, 1975A).

Aus sehr unterschiedlichen Bereichen immunologischer Forschung weiß man, dass die Balance zwischen aktivierenden und deaktivierenden Einflüssen auf die Immunkompetenz ein entscheidendes homöostatisches Prinzip immunologischer Prozesse abbildet. Hinsichtlich verschiedener Theorien und Modelle für die Entstehung von Autoimmunkrankheiten wird deutlich, dass der endogenen Glukokortikoidantwort eine wesentliche Rolle in der Vermittlung dieses homöostatischen Prinzips auf der Seite hemmender Einflussnahme zukommen könnte. Bei genauerer Betrachtung der für die Migration von Leukozyten verantwortlichen Prozesse verdichtet sich auch in Hinblick auf „homing“ die Erkenntnis dieser Funktion der Glukokortikoide. Aus diesem Grund soll sich die Diskussion der hier erhobenen Befunde recht ausführlich auf die Mechanismen des „homing“ konzentrieren, um zum Abschluss einige Implikationen auch für den Bereich der Immunpathologie abzuleiten.

4.2 Mechanismen der Lymphozytenmigration

"..Lymphocytes circulate and recirculate, so that the cells present in the blood at any time are like the chorus of soldiers in a provincial production of the Opera Faust - they make a brief public appearance and then disappear behind the scenes only to re-enter by the same route." (Medawar & Medawar, 1977)

Reife Lymphozyten zirkulieren kontinuierlich durch den Körper und wandern zwischen lymphoiden Organen über den Lymphstrom oder das Blut (GOWANS & KNIGHT, 1964). Wenngleich es auch Unterschiede hinsichtlich lymphoider Subpopulationen gibt, kann man doch davon ausgehen, dass der durchschnittliche Lymphozyt alle ein bis zwei Tage in einem bestimmten Organ wiederzufinden ist. Der Effekt ist wahrscheinlich von fundamentaler Bedeutung für das Immunsystem, da das Migrationsverhalten von Lymphozyten das volle Repertoire der lymphoiden Spezifität für den Gesamtorganismus zur Verfügung stellt. Mit anderen Worten, hochspezifische, antigenspezifische Lymphozyten sind so viel eher in der Lage, zur geeigneten Zeit am geeigneten Ort zu sein. Voraussetzung für dieses Migrationsverhalten ist der Umstand, dass Lymphozyten offensichtlich in der Lage sind, spezielles lymphoides Gewebe rezeptorvermittelt wiederzuerkennen.

Es handelt sich bei diesem Gewebe in den lymphoiden Organen um ein hohes Epithelgewebe, welches an den Venolen lokalisiert ist (high endothelial venules, HEV). Für dieses Gewebe ist seit längerer Zeit bekannt, dass es von großer Bedeutung für den Prozess des „homing“ ist. Bereits seit Beginn der 80iger Jahre liegen umfangreiche Übersichtsarbeiten zum Bereich der Rezeptoren auf lymphoiden Zellen vor, die mit entsprechenden Rezeptoren auf diesem Gewebe interagieren.

Im folgenden sollen kurz die wesentlichen Bestandteile des Prozesses immunologischer Migration aufgezeigt werden. Insgesamt, so kann man zusammenfassen, gibt es drei unabhängige Rezeptorsysteme, die die Wanderung lymphoider Zellen in bestimmte lymphoide Organe oder an den Ort der Entzündung vermitteln. Eine

Gruppe von Rezeptoren vermittelt die Lymphozyteninteraktion mit HEV in den peripheren Lymphknoten, andere sind mehr für Migrationsverhalten in das Mucosa-assoziierte lymphoide Gewebe verantwortlich, und eine dritte Gruppe reguliert die Migration in den Entzündungsherd. Man geht davon aus, dass verwandte ggf. identische Rezeptortypen auf verschiedenen Leukozyten (z.B. polymorph-kernige Leukozyten, Monozyten und natürliche Killerzellen) vorhanden sind. Die entsprechenden Rezeptoren sind Mitglieder der Familie von Glykoproteinen und kontrollieren die Extravasation von Lymphozyten, aber auch Leukozyten. Sie unterstützen damit die spezifische, aber auch unspezifische Immunantwort *in vivo* (JALKANEN, REICHERT, GALLATIN, BARGATZE, WEISSMAN & BUTCHER, 1986).

Hinsichtlich des Migrationsverhaltens von Lymphozyten wird häufig der Begriff des „homing“ benutzt. Dieser hat sich etabliert, obgleich er den fälschlichen Schluß nahelegt, dass Lymphozyten *immerzu* eine bestimmte Stelle aufsuchen würden, von der sie entweder ausgegangen oder in der sie entstanden sind. Dennoch soll, um eine gewisse Homogenität der Begriffswahl aufrechtzuerhalten, auch in diesem Absatz vom homing als Migrationsprozess die Rede sein.

Homing-Rezeptoren auf z.B. HEV finden ihr Gegenstück auf entsprechenden Rezeptoren lymphoider Zellen. Nicht nur aus *in-vitro*-, sondern auch aus *in-vivo*-Studien ist bekannt, dass Lymphozyten zum Teil ein recht spezifisches Migrationsverhalten aufweisen. So zeigt sich z.B. für kleine Lymphozyten, die den Lymphknoten entnommen werden und anschließend wieder in den Blutstrom appliziert werden, ein spezifisches homing-Verhalten zurück zu den peripheren Lymphknoten, während andere Lymphozyten (z.B. aus dem Darmbereich) erneut zu den Peyerschen Plaques migrieren (SMITH, MARTIN & FORD, 1980). Unter Einbeziehung monoklonaler Antikörper (z.B. MEL-14), die sich sehr spezifisch gegen homing-Rezeptoren des Lymphknotens bei der Maus richten, konnte schon früh demonstriert werden, dass diese Behandlung ein weiteres Migrationsverhalten in diese Lokalisation komplett unterbindet, während z.B. HEV in den Peyerschen Plaques nicht betroffen war (GALLATIN, WEISSMAN & BUTCHER, 1983).

Es ist aber auch wichtig festzuhalten, dass das Migrationsverhalten von Lymphozyten nicht nur von Rezeptor-Rezeptor-Interaktionen abhängt, sondern auch vom Aktivierungsgrad der Zelle selber. Der größte Anteil zirkulierender immunkompetenter Lymphozyten befindet sich im G_0 -Stadium des Zellzyklus, das sie für verschiedene Tage, aber auch durchaus einige Jahre einhalten können (GOWANS, 1962). Das Ausmaß der Migrationsbewegungen ist erstaunlich. Für die Ratte konnte gezeigt werden, dass 4×10^7 Lymphozyten pro Stunde über den Ductus thoracicus ins Blut abgegeben werden. Diese Rate reicht aus, um die Lymphozyten im peripheren Blut 10 - 20 mal am Tag rezirkulieren zu lassen (FORD, 1969). PABST und BINNS (1989) haben in ihrer hervorragenden Übersicht das Ausmaß der Rezirkulation von Lymphozyten am Beispiel eines jungen Erwachsenen berechnet (Abbildung 18).

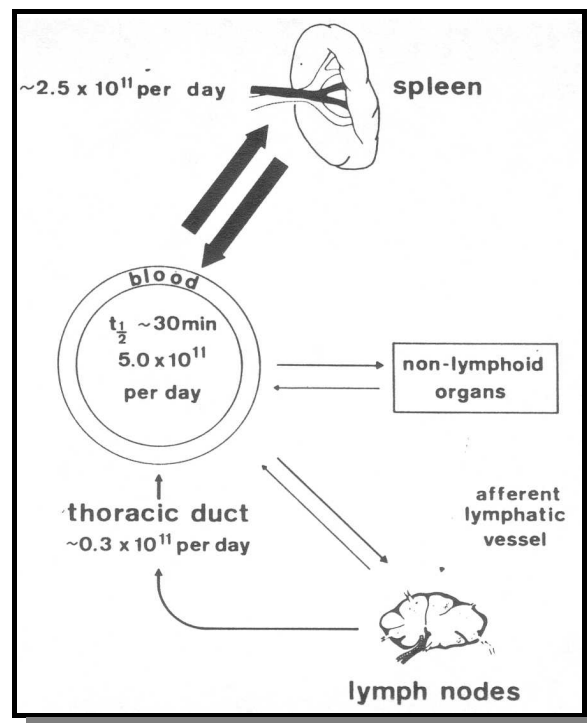


Abbildung 18: Umfang der lymphozytären Migration bei einem jungen Erwachsenen (PABST & BINNS, 1989).

Wenn eine Zelle am HEV für mehr als 12 Sekunden bindet, dann löst sich dieser Zellkontakt nicht mehr, und der Lymphozyt ist bereit zur Extravasation. Wie bereits angedeutet, ist das Bindungsverhalten an HEV unterschiedlicher Subpopulationen durchaus verschieden. Es ist bekannt, dass B-Zellen mit zwei- bis dreifach größerer Präferenz an HEV in den Peyerschen Plaques binden, während T-Zellen weitaus besser an dieses Endothelgewebe in den peripheren Lymphknoten anhaften (STEVENS, WEISSMAN & BUTCHER, 1982). Ebenso aus den frühen 80iger Jahren stammt die Erkenntnis, dass CD4+ und CD8+T-Zellen hinsichtlich ihres Bindungsverhaltens an HEV der peripheren Lymphknoten unterschiedliches Bindungsverhalten zeigen. Es wird davon ausgegangen, dass diese Subpopulationen zwar Rezeptoren für Lymphknoten und Peyersche Plaques besitzen, dass die Ansprechbarkeit jedoch je nach Lokalisation unterschiedlich sein kann. Ein unterschiedliches „homing“ von CD4+ und CD8+ Zellen wird auch durch die Ergebnisse dieser Arbeit nahegelegt.

Auch hinsichtlich des Isotyps muß festgehalten werden, dass bezogen auf die Tatsache der erhöhten IgA-Produktion in den Peyerschen Plaques in erster Linie IgA-spezifische T-Helferzellen einwandern (BUTCHER, STEVENS, REICHERT, SCOLLAY & WEISSMAN, 1982).

Im Falle von Gewebsschädigungen oder Infektionen ist die starke Einwanderung von Neutrophilen, Monozyten und Lymphozyten in das Gewebe bekannt, die einer deutlichen Kinetik folgt. Als erste finden sich neutrophile Granulozyten, gefolgt von Monozyten und mehrere Stunden später Lymphozyten am Ort des Geschehens ein (DVORAK, MIHM & DVORAK, 1976). Dies läßt darauf schließen, dass die Zellmigration in entzündetes Gewebe komplexen und je nach Zellpopulation unterschiedlichen Leukozyten-Endothelialinteraktionen unterliegt. Im Falle einer akuten Entzündung oder auch einer Chronifizierung finden sich lymphozytensubpopulationsspezifische Migrationsmuster. Es ist bekannt ist, dass insbesondere CD4+-T-Lymphozyten in den Entzündungsbereich einwandern (DUIJVESTIJN, HORST, PALS, ROUSE, STEERE, PICKER, MEIJER & BUTCHER, 1988).

Die zuvor beschriebenen Prozesse hinsichtlich des HEV haben gewisse Gemeinsamkeiten mit Migrationsbewegungen zum Entzündungsherd, da eine Vorbehandlung von Neutrophilen mit dem zuvor bezeichneten Antikörper MEL-14 deren Migration zum Ort der Entzündung mit ungefähr 65% hemmt (YEDNOCK & ROSEN, 1989).

Das Antigen LFA-1 (lymphocyte function associated antigen-1) ist ein Mitglied der Integrinfamilie und wird exklusiv auf Leukozyten exprimiert (HYNES, 1987). So exprimieren auch die meisten Lymphozyten LFA-1, welches als akzessorisches Molekül verschiedene Adhäsionsinteraktionen vermittelt. Der Ligand für LFA-1 ist das "intercellular adhesion molecule-1" (ICAM-1) (MARLIN & SPRINGER, 1987). ICAM-1 wird noch in der Folge sehr ausführlich zu behandeln sein. Es handelt sich hierbei um ein ca. 90 - 114 kDA Glykoprotein, welches von diversen Zellen (Epithelzellen) exprimiert wird. Behandelt man Lymphozyten mit monoklonalen Antikörpern gegen LFA-1, findet man eine Inhibition der Bindung an HEV in peripheren Lymphknoten in vitro um ungefähr 40 - 50% (HAMANN, JABLONSKI-WESTRICH, SCHOLZ, DUIJVESTIJN, BUTCHER & THIELE, 1988).

Offensichtlich erwerben Lymphozyten ihre Fähigkeit zum homing erst im Laufe der Entwicklung. Es ist z.B. bekannt, dass fötale T-Zellen (CAHILL, POSKITT, HAY, HERON & TRNKA, 1979) keinerlei homing-Verhalten aufweisen. Injiziert man jedoch reife Lymphozyten von erwachsenen Tieren in Föten, dann findet man erneut *spezifisches* Migrationsverhalten (HALL, HOPKINS & ORLANS, 1977). Es ist also davon auszugehen, dass unreife Lymphozyten keine homing-Rezeptoren aufweisen. Im Zuge ihrer Reifung sind diese Zellen dann in der Lage, solche zu exprimieren. Die von der Ontogenese der Lymphozyten abhängige Expression von ICAM-1 könnte durchaus einen Schutzmechanismus des Organismus repräsentieren. Die niedrige Expression des Antigens auf ruhenden Zellen könnte demnach einer nicht angemessenen Zell-Zell-Interaktion vorbeugen. Nach Aktivierung und der dann folgenden rapiden Hochregulation von ICAM-1 ist eine

effiziente Interaktion mit anderen zellulären Mediatoren im Sinne einer konzentrierten Immunantwort beobachtbar (WAWRYK, NOVOTNY, WICKS, WILKINSON, MAHER, SALVARIS, WELCH, FECONDO & BOYD, 1989). Die Autoren spekulieren daher, dass eine dysregulierte ICAM-1-Expression die notwendige Balance und Kontrolle immunologischer Prozesse stören und damit u.U. zur Initiation oder auch zur Aufrechterhaltung entzündlicher Erkrankungen beitragen könnte. Interessant ist, dass bereits Mitte der 70iger Jahre festgestellt wurde, dass das homing-Verhalten peripherer Lymphozyten auch hormonell bedingt variieren kann. IgA-produzierende Zellen z.B. migrieren besser in die Brustdrüse unter der Präsenz von Östrogen (WEISZ-CARRINGTON, ROUX, McWILLIAMS, PHILLIPS-QUAGLIATA & LAMM, 1978). Dieser Bereich soll aber an späterer Stelle intensiver aufgegriffen werden.

KIERAN, BLANK, LE BAIL & ISRAEL (1989) kommen in ihrer hervorragenden, umfangreichen Übersicht zum Themenbereich zu folgenden Schlüssen:

- 1) Lymphozyten exprimieren Rezeptoren, die die spezifische Adhärenz an Moleküle (Adresine) auf HEV-Zellen vermitteln.
- 2) Homing-Rezeptoren sind abhängig vom Entwicklungsstadium des Lymphozyten.
- 3) Homing-Rezeptoren auf Lymphozyten gehören voraussichtlich einer 90 kDa Molekülfamilie an, die durchaus modifiziert vorliegen kann, um Spezifität zu gewährleisten.
- 4) Rezeptoren auf Lymphozyten agieren als lektinähnliche Moleküle, die Kohlenstoffmoleküle auf HEV-Zelloberflächen erkennen.
- 5) HEV-Zellen können mehr als eine Adresinspezifität erwerben.
- 6) HEV-Adressine können exprimiert werden unter dem Einfluß von lymphozytär freigesetzten Zytokinen.
- 7) Lymphozyt-HEV-Interaktionen sind sowohl kalzium- als auch energieabhängig.

Zwischenzeitlich sind diverse Formen von homing bekannt, die sich hinsichtlich der Destination unterscheiden: Peyersche Plaques, periphere Lymphknoten, Lunge und Synovialmembran. Andere mögliche homing-Muster beziehen das weitere Kolon, Jejunum, Trachea, Tonsillen, Brust, Cervix, Uterus, oder aber auch erkranktes, entzündetes oder verletztes Gewebe mit ein. Interessant in diesem Zusammenhang ist auch, dass verschiedene Faktoren dazu führen, dass sich Endothelzellen der Struktur von HEV auch außerhalb der lymphoiden Organe annähern können. So führt zum Beispiel TNF- α , aber auch Interferon- γ , zu einer derartigen Elongation von Epithelzellgewebe (STOLPEN, GUINAN, FIERIS & POBER, 1986).

Hinsichtlich immunpathologischer Mechanismen ist es daher bedeutsam, dass Endothelzellen im Bereich chronischer Entzündung ebenfalls den Phänotyp und morphologische Charakteristika von HEV aufweisen, wie sie sonst nur im lymphatischen Gewebe aufgefunden werden (DUIJVESTIJN, KERKHOVE, BARGATZE & BUTCHER, 1987).

Die Adhäsion von Leukozyten an Endothelgewebe ist durch diverse lösliche Substanzen zu steigern. Hierzu zählen in erster Linie Interleukin-1 (IL-1), TNF- α , IFN- γ und Lipopolysaccharide (LPS). Alle führen zu einem Anstieg der interzellulären Bindung von Leukozyten an das Endothelium über einen direkten Einfluß auf entsprechende Endothelzellen. Auch in diesem Zusammenhang ist ICAM-1 von großer Bedeutung, da gezeigt werden konnte, dass die Expression auf Endothelgewebe normalerweise relativ niedrig ist, unter dem Einfluß von TNF- α , aber auch IL-1 jedoch dramatisch ansteigt (POBER, LAPIERRE, STOLPEN, BROCK, SPRINGER, FIERIS, BEVILACQUA & GIMBRONE, 1987).

PABST & BINNS (1989) gehen der Frage nach, in welche Kompartimente Lymphozyten mit Präferenz einwandern. Wenn man in-vitro Lymphozyten markiert und anschließend intravenös appliziert, finden sich innerhalb weniger Minuten 40% der markierten Zellen in der Lunge (BINNS & LICENCE, 1985). Des weiteren liegen Befunde vor, dass insbesondere T-Zellen vorrangig in die Lunge einwandern

(PABST, BINNS, PETER & LICENCE, 1989). Diese T-Lymphozyten unterscheiden sich von anderen Lymphozyten im peripheren Blut hinsichtlich ihrer Oberflächenmarker und der Lymphokinproduktion (HOLT, KEES, SCHON-HEGRAD, ROSE, FORD, BILYK, BOWMAN & ROBINSON, 1988).

Auch die Leber ist offensichtlich ein Organ, in welchem differentielles homing stattfindet. In einer Studie an Schafen konnte demonstriert werden, dass Lymphozyten in der Leber ein anderes CD4:CD8-Verhältnis als solche im peripheren Blut aufweisen, und dass eine große Anzahl der dort detektierten Zellen eine geringe Markierung für das CD8-Antigen aufweisen (MEEUSEN, GORRELL & BRANDON, 1988). Unmittelbar nach der Injektion markierter Lymphozyten finden sich ebenfalls annähernd 40% in der Milz wieder (RANNIE & DONALD, 1977; SMITH & FORD, 1983). Bereits ein bis zwei Stunden nach der Injektion ist die maximale Aufnahme von Lymphozyten in der Milz erreicht, während dies bei peripheren Lymphozyten sogar 18 - 24 Stunden dauert (SMITH & FORD, 1983; WESTERMANN, WILLFÜHR, ROTHKÖTTER, FRITZ & PABST, 1989). Ergänzend muß auch festgehalten werden, dass das Knochenmark ein wichtiger Ort für lymphozytäres homing darstellt (PABST & BINNS, 1989).

Eine intradermale Injektion des Mitogens Phythämagglutinins (PHA) führt zu einer raschen Einwanderung von Lymphozyten an die jeweilige Lokalisation, die bereits zwei Stunden nach Injektion sichtbar wird und ihr Maximum zwischen 6 und 24 Stunden erreicht. Diese Wanderung in das Hautgewebe kann über drei Tage andauern und verbindet sich mit einer inflammatorischen Reaktion, die einer unspezifischen akuten Entzündung gleicht und den Charakter einer „delayed-type-hypersensitivity“-Reaktion ähnelt mit den klinischen Zeichen der Schwellung, Rötung und Induration (BINNS & LICENCE, 1989).

Zusammengefaßt muss also festgehalten werden, dass der Ort des homing zwischen den einzelnen Subpopulationen lymphoider Zellen sehr unterschiedlich ist. Dies muss auch hinsichtlich der hier vorliegenden Ergebnisse berücksichtigt werden. Der Mechanismus, der einer Redistribution von CD8+ Zellen zugrunde-

liegt und offensichtlich in weitaus stärkerem Maße glukokortikoidabhängig ist als derjenige für NK-Zellen kann auch in dem Umstand begründet sein, dass CD8⁺ Zellen in andere Kompartimente wandern als CD56⁺ Zellen, von denen man weiss, dass sie stark in die Lunge einwandern.

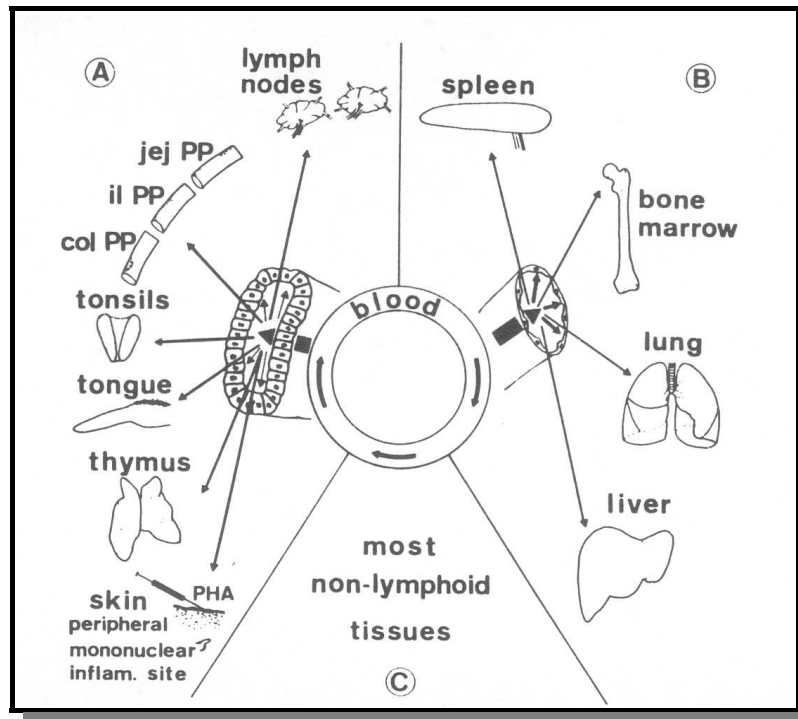


Abbildung 19: Die Migration peripherer Lymphozyten ist abhängig von der jeweiligen Destination (PABST BINNS, 1989), wobei die Migration in die Organe Lymphknoten, Peyersche Plaques, Mandeln, Zunge, Thymus und Entzündungsherde über HEV vermittelt ist, diejenige hingegen in Milz, Knochenmark, Lunge und Leber kein HEV erfordert.

An dieser Stelle ist hervorzuheben, dass der transforming growth factor (TGF- β) einen regulatorischen Einfluß auf HEV ausübt. Im picomolaren Bereich zeigt TGF- β einen deutlichen antiproliferativen Effekt auf vaskuläres Endothel. Fügt man TGF- β HEV-Zellen in Kultur zu, kann man eine signifikante Reduktion der Bindungskapazität an zirkulierende Lymphozyten zeit- und dosisabhängig beobachten. Des weiteren blockt TGF- β die Effekte von TNF- α und -IFN, Zytokine,

die, wie bereits dargestellt, normalerweise die Adhäsion von Lymphozyten and HEV steigern (CHIN, SACKSTEIN & CAI, 1991). Dies ist ein nicht zu unterschätzender Befund auch hinsichtlich dieser Arbeit, da der Einfluß von Glukokortikoiden auf TGF- noch darzustellen ist (s.u.).

Hinsichtlich der übergeordneten, teleologischen Bedeutung des lymphozytären homing weisen BUTCHER & PICKER (1996) in einer neueren Arbeit auf einen interessanten Aspekt hin. Ausgehend von der Tatsache, dass die Hauptpopulationen *zirkulierender* B- und T-Zellen, insbesondere Gedächtniszellen, in einer relativ begrenzten Anzahl vorliegen, wird davon ausgegangen, dass naive B- und T-Zellen vom Knochenmark resp. Thymus um den Eintritt in den zirkulierenden Lymphozytenpool kompetieren müssen. Die Theorie geht des weiteren davon aus, dass diese Form des „competitiven homing“ in entsprechende Nischen einen ganz wesentlichen Prozeß für die Aufrechterhaltung lymphozytärer Homöostase darstellt. Diese Nischen können durchaus überbesiedelt sein, und in diesem Fall würde die Konkurrenz deutlich ansteigen. Als Konsequenz würden Zellen absterben, bis eine Balance wieder hergestellt ist. Die Autoren gehen des weiteren davon aus, dass die Integrine bzw. Adhäsionsmoleküle an diesem Prozeß maßgeblich beteiligt sind. Wichtig ist nun, dass dieses Modell der Homöostase sich nicht auf Charakteristika einzelner Zellen, sondern auf die Gesamtanzahl und Diversität kompetitiver Zellen bezieht. Ein Fehlen dieser Wettbewerbssituation würde nicht nur die Lebensdauer von Lymphozyten verlängern, sondern auch die entsprechenden Selektionsmechanismen zur Reduktion ungesteuerter Expansion unterlaufen. Eine Veränderung dieser kompetitiven Situation ist nach BUTCHER & PICKER (1996) durchaus klinisch relevant. Betrachtet man z.B. die Situation einer konventionellen Knochenmarkstransplantation unter der Voraussetzung, dass der Thymus keine volle Funktionsbereitschaft aufgrund fortgeschrittenen Alters oder anderer Faktoren hat, können die Spender-T-Zellen im Knochenmark in annähernd ungesteuerter Weise expandieren. Diese Expansion lymphoider Zellen in annähernd geleerten lymphoiden Kompartimenten würde die Konkurrenz deutlich

reduzieren und möglicherweise das Überleben autoreaktiver Lymphozyten favorisieren. Ein solcher Mechanismus könnte der entscheidende Faktor für die Entwicklung von Autoimmunsyndromen, wie der chronischen Graft-versus-host-Erkrankung, nach einer Knochenmarkstransplantation sein. BUTCHER & PICKER (1996) geben den Kern des Modells in folgender Graphik (Abb. 20) wieder:

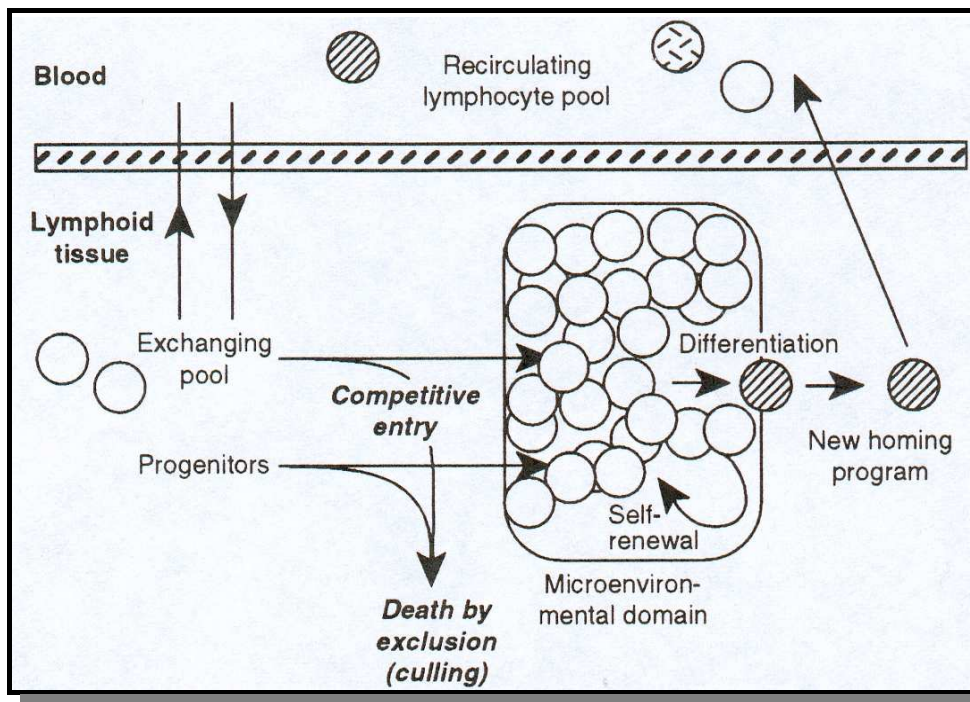


Abbildung 20: Bedeutung des „competitive homing“ nach BUTCHER & PICKER (1996). Kompetitives homing entscheidet über regulatorische Faktoren, die ihrerseits eine Balance zwischen Zellüberleben, -differenzierung und -tod gewährleisten, wobei sich dieses auf alle „Nischen“ je Subpopulation bzw. Spezifität beziehen kann.

Zusammengefasst kann festgehalten werden, dass die Steuerung der Lymphozytenmigration physiologisch von großer Bedeutung ist. Die Erkennung und auch der Kontakt zwischen Leukozyten und Endothel wird über Adhäsionsmoleküle in Form einer Reaktionskaskade gesteuert. Die relevanten Adhäsionsmoleküle entstammen drei Hauptgruppen: Selektine, Integrine und Mitglieder der Immun-

globulin Superfamilie, wobei die Selektine den frühen Schritt der Bindung zwischen Leukozyten und Endothelzellen vermitteln. Dieser leichte Kontakt führt aufgrund des Blutflusses zu einem "Roller" des Leukozyten entlang des Epithelgewebes. Über Chemokine wird die Zelle dann an das Epithel gebunden, wobei die Rolle der Chemokine in der Aktivierung leukozytärer Integrine besteht, die dann vermehrt mit endothelialen Adhäsionsmolekülen der Immunglobulin-Superfamilie reagieren. Wichtigste Vertreter auf der Seite der Integrine sind LFA-1, MAC-1 und VLA-4, solche auf Epithelebene ICAM-1 und VCAM-1. EBNET und VESTWEBER (1999) geben in ihrer hervorragenden Übersicht folgende vereinfachte Abbildung:

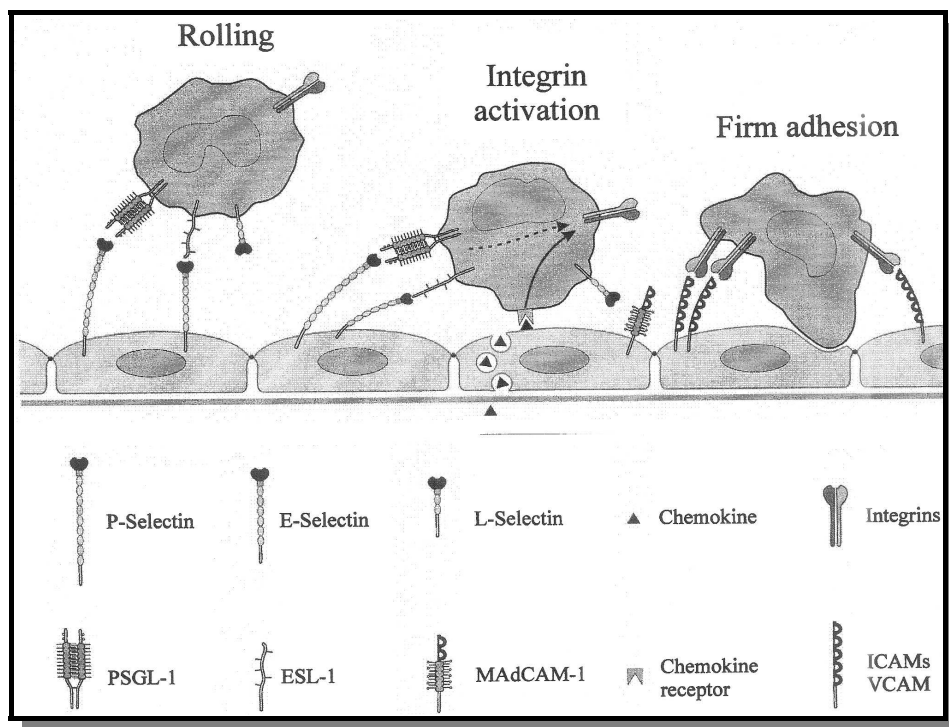


Abbildung 21: Am Adhäsionsprozess beteiligte Moleküle (nach EBNET UND VESTWEBER, 1999)

Die Bezeichnung der Selektine (L-, E-, und P-) bezeichnet den Ort ihres haupt-

sächlichen oder sogar ausschließlichen Vorkommens (Leukozyten, Endothel und Platelets [Thrombozyten]), wobei L-Selektin als erster "homing receptor" auf Lymphozyten über Einsatz des monoklonalen Antikörpers MEL-14 (s.o.) identifiziert wurde. Erst später zeigte sich, dass auch neutrophile Granulozyten und Monozyten diesen Rezeptor aufweisen und L-Selektin dadurch an Bedeutung für lokale Entzündungen gewann. Hinsichtlich der Lymphozyten spielt L-Selektin eine Rolle beim Eintritt in sekundäre lymphoide Organe (z.B. Lymphknoten). E-Selektin wird über die Zytokine IL-1, TNF- und TNF- sowie über Lipopolysaccharide (LPS) induziert. Aber auch direkter Zellkontakt zwischen aktivierten T-Zellen und Endothel kann zur Expressierung von E-Selektin führen. E- und P-Selektin spielen nachweislich keine Rolle bei der Migration von Lymphozyten in die Lymphknoten, während alle drei Formen an der Einwanderung von Leukozyten in den Entzündungsherd beteiligt sind. In Abbildung 22 sind die wichtigsten Selektine, Integrine und die entsprechenden Bindungspartner dargestellt (nach EBNET & VESTWEBER, 1999).

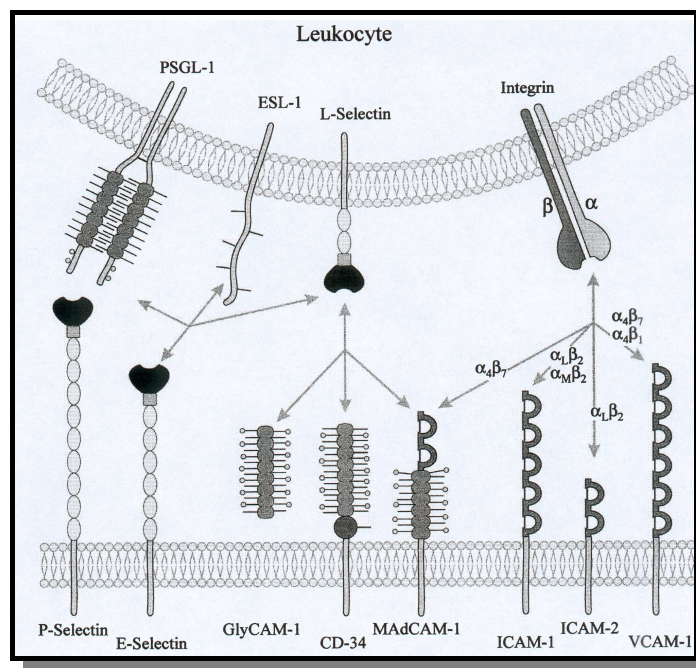


Abbildung 22: Adhäsionsmoleküle und ihre Liganden (nach EBNET & VESTWEBER, 1999)

4.3 Psychoneuroimmunologie und Lymphozytenmigration

Nachdem zuvor die allgemeinen Grundlagen der Zellmigration dargestellt wurden, soll nun etwas ausführlicher auf Zusammenhänge zwischen Zellmigration und zentralnervösen Einflüssen eingegangen werden.

Es ist bekannt, dass Neuropeptide am Migrationsverhalten lymphoider Zellen beteiligt sind. Für das vasointestinale Peptid (VIP) und die Substanz P liegen deutliche Effekte auf homing-Mechanismen vor. Darüber hinaus ist VIP ein sehr intensiver Stimulator der Chemotaxis von Monozyten (SACERDOTE, RUFF & PERT, 1988). Eine Infusion von 0,1 nmol VIP führt zu einer starken Reduktion der Anzahl peripherer Lymphozyten um ungefähr 75%. Diese Reduktion ist nach MOORE, SPRUCK & SAID (1988) für mehrere Stunden beobachtbar. Des weiteren zeigt sich, dass B-Zellen für diese Veränderungen anfälliger sind als T-Zellen, wobei CD8⁺ Zellen ihrerseits eher betroffen sind als CD4⁺ Zellen (MOORE ET AL., 1988). Es ist bekannt, dass T-Zellen Rezeptoren für VIP exprimieren, wobei CD4⁺-Zellen eine stärkere Bindung als CD8⁺ Zellen aufweisen (OTTAWAY, 1988). Auch für Substanz P gilt, dass die Freisetzung von CD4⁺ Zellen ein bis zwei Stunden nach Substanzinfusion deutlich reduziert war, dass jedoch nach einem längeren Beobachtungsintervall (mehr als 24 Stunden nach Infusion) sich die Anzahl dieser Zellen deutlich erhöht (MOORE, WHITLEY, LAMI & SAID, 1990). Auch von Substanz P weiß man, dass Lymphozyten Rezeptoren exprimieren, wobei wiederum mehr auf CD4⁺ als auf CD8⁺ positiven T-Lymphozyten gemessen wurden (PAYAN, BREWSTER & GOETZL, 1984; PAYAN, BREWSTER, MISSIRIAN-BASTIAN & GOETZL, 1984).

Für Substanz P, deren chemotaktische Eigenschaften für Monozyten und deren aktivierende Funktionen für Neutrophile bekannt sind (RUFF, WAHL & PERT, 1985), wird angenommen, dass das Neuropeptid Substanz P maßgeblich an akuten und chronischen Entzündungsreaktionen beteiligt ist. Hinsichtlich des Mechanismus der Substanz-P-vermittelten Zellmigrationen ist es naheliegend, dass das Peptid

Einfluß auf ICAM-1 bzw. LFA-1 nimmt. In einer Studie von VISHWANATH & MUKHERJEE (1996) wird folgerichtig demonstriert, dass Substanz P zu einer Höherregulation des ICAM-1 auf Endothelzellen führt. Auch Arginin-Vasopressin (AVP) ist offensichtlich an der Steuerung des Migrationsverhaltens von Lymphozyten beteiligt, zumal es zur Induktion der Interferonproduktion von Lymphozyten führt (JOHNSON & TORRES, 1985). Desgleichen werden immunstimulierende Effekte von Wachstumshormon berichtet, die ebenfalls auf der Ebene der gesteigerten Migrationsfähigkeit von lymphoiden Zellen interpretiert wurden (SNOW, 1985). Schließlich sollte erwähnt werden, dass das alpha-Melanozyten - stimulierende Hormon (α -MSH) über seine antientzündlichen und antipyretischen Effekte offensichtlich auch an der Migration inflammatorischer Zellen an den Entzündungsort beteiligt ist (MASON & VAN EPPS, 1989).

Am intensivsten erforscht ist aber sicherlich der Einfluß von Katecholaminen auf das Migrationsverhalten von lymphoiden Zellen. Auch im Hinblick auf die vorliegende Arbeit ist eine Kontrastierung zwischen katecholaminerger Migrationsaktivierung und ggf. der glukokortikoidvermittelten Rückregulation von besonderer Bedeutung. Aus diesem Grund sollen die abschließenden Teile der Diskussion sich intensiver mit Mechanismen dieser Phänomene beschäftigen.

Zahlreiche Arbeiten konnten demonstrieren, dass lymphoide Organe einer starken Innervierung durch das autonome Nervensystem unterliegen. Als postganglionärer Transmitter spielt Noradrenalin bei diesen Fasern eine zentrale Rolle. Auch aus pharmakologischen Studien ist bekannt, dass z.B. Adrenalin zu einer Leukozytose führt, die ganz offensichtlich aus einer Freisetzung der Zellen von der Milz erklärbar ist, wobei zu ergänzen ist, dass dies nicht ein Effekt einer allgemein erhöhten Milzdurchblutung ist, da sich die Anzahl von Lymphozyten pro Volumeneinheit, also unabhängig vom Blutfluss, deutlich erhöht.

Eine Behandlung mit 6-Hydroxydopamin (6-OHDA), welches zur funktionalen Sympathektomie führt, belegt ebenfalls den Einfluß des Sympathikus auf Zell-

migration (FELTEN, FELTEN, BELLINGER, CARLSON, ACKERMAN, ADDEN, OLSCHOWKA & LIVNAT, 1987).

Es ist bekannt, dass kurzfristige körperliche Anstrengung mit sehr dramatischen Veränderungen peripherer Katecholaminkonzentrationen einhergeht, und basierend auf den zuvor genannten Befunden, ist es demzufolge nicht überraschend, dass auch eine Leukozytose nach einer Belastung dieser Art beobachtbar ist. LANDMANN und Mitarbeiter (1985) zeigten in verschiedenen Studien, dass nicht nur Adrenalin und Noradrenalin mit starken Anstiegen nach Ergometrie verbunden waren, sondern dass auch die Anzahl von B-Zellen, CD4+ und CD8+ Zellen deutlich unter körperlicher Belastung ansteigt (LANDMANN, DURIG, GUDAT, WESP & HARDER, 1985). Es gibt durchaus Hinweise, dass diese Zellen von der Milz in den Blutstrom freigesetzt werden, denn die gleiche Belastung (Ergometerstreß) führt bei Patienten ohne Milz zu wesentlich geringeren Veränderungen von CD8+ T-Zellen bzw. B-Zellen; eine Veränderung von CD4+ positiven Zellen fällt komplett aus.

Nicht nur körperliche Belastung, sondern auch mentale Anstrengung kann unter gewissen Umständen mit lymphozytären Veränderungen verbunden sein. Teilt man eine Stichprobe in starke versus weniger starke Responder peripherer Katecholaminspiegel ein, so läßt sich für die Gruppe der „high responder“ zeigen, dass sich insbesondere die Fraktion peripherer CD8+ Zellen erhöht, wobei sowohl CD4+ als auch B-Zellen keinerlei Veränderungen aufweisen. Dieser Befund, ebenfalls von der Arbeitsgruppe um LANDMANN (1985), entspricht sehr genau den Befunden der hier vorliegenden Arbeit, in der sich ebenfalls die peripheren CD8+ Zellen als Population herausstellt, die im Vergleich zu allen anderen T-Zellfraktionen die deutlichsten Veränderungen ausweist. Die Veränderungen peripherer CD8+ Zellzahlen werden hinsichtlich ihrer Effektstärke offensichtlich nur noch von der Fraktion der natürlichen Killerzellen überschritten.

Neuere Studien gehen der Frage nach zugrundeliegenden Mechanismen katecholaminerg vermittelter Leukozytenmigration nach. Aus in-vitro-Studien, aber auch einigen in-vivo-Arbeiten, weiß man, dass die α -adrenerge Rezeptorstimulation die Migration von Leukozyten über Adhäsionsmoleküle verändern kann (CARLSON, BEITING, KIANI, ABELL & MCGILLIS, 1996; SUNG, ARIETH, STORER & FEUERSTEIN, 1991; KUROMAWA, SHINKAI, TORII, HINO & SHEK, 1995). CARLSON et al. (1996) demonstrieren, dass Katecholamine die LFA-1-vermittelte Adhäsion von T-Zellen nach Interleukin1 verändern. In einer Studie von MILLS, KARNIK & DILLON (1997) ist diesem Phänomen über die Infusion von α -Adrenorezeptoragonisten explizit nachgegangen worden. Isoproterenol führt zu einer erwarteten Leukozytose mit deutlichen Anstiegen CD8+ T-Zellen, natürlicher Killerzellen, aber auch Monozyten, während CD4+, aber auch B-Zellen und Granulozyten in ihrer absoluten Anzahl reduziert werden. Des weiteren konnte über flowcytometrische Analysen demonstriert werden, dass L-Selektin (CD62L) an der Vermittlung der Effekte maßgeblich beteiligt ist. Ca. 60% der peripheren CD8+ Zellen exprimieren unter Ruhebedingungen L-Selektin. Diese Population (CD8+, CD62L+) respondiert *nicht* auf Isoproterenol. Im Gegensatz dazu zeigen CD8+ CD62L- -Zellen deutliche Anstiege von ungefähr 100% als Reaktion auf Isoproterenol. Im Gegensatz zu den Befunden peripherer CD8+ Zellen zeigt sich jedoch, dass L-Selektin positive CD4+ Lymphozyten (CD4+, CD62L+) in ihrer Anzahl auf Isoproterenol abnehmen. Des weiteren wird in der Studie berichtet, dass ICAM-1 über alle Lymphozyten von ca. 60% der Zellen exprimiert wurde. Isoproterenol-Infusionen hatten jedoch keinen signifikanten Effekt auf die Veränderung dieser ICAM-1-positiven Zellen. Die Autoren gehen davon aus, dass der starke Anstieg der Fraktion CD8+CD62L- -Zellen durch möglicherweise drei Mechanismen erklärt werden könne:

- 1) einen Abwurf des L-Selektin („shedding“),
- 2) die Unfähigkeit dieser Zellen, am Endothelium zu binden,
- 3) eine vorrangige Freisetzung dieser Zellen in die Zirkulation.

Es muß aber auch berücksichtigt werden, dass Lymphozyten der Milz eine annähernd zweifach höhere Dichte von α_2 -Adrenorezeptoren im Vergleich zu solchen im zirkulierenden Blut aufweisen (SCHEDLOWSKI, HOSCH, OBERBECK, BENSCHOP, JACOBS, RAAB & SCHMIDT, 1996). In in-vivo-Studien, bei denen die sympathische Aktivierung für die Leukozytose verantwortlich gemacht wird (SCHEDLOWSKI, ET AL., 1996), zeigt sich eine deutliche Reduktion des CD4:CD8-Verhältnisses. Ganz offensichtlich ist dieses zu erklären über eine kombinierte Migration von CD8+CD62L- und CD4+CD62L+ - Zellen. Die Studie faßt zusammen, dass die Expression von L-Selektin eine wesentliche Voraussetzung für die α_2 -adrenerge Induktion von T-Zellwanderungen spielt. Bezogen auf die in dieser Arbeit aufgestellten Befunde wäre demnach anzunehmen, dass die starke Zunahme von CD8+ Zellen auch auf die Fraktion der CD8+CD62L- Zellen zurückzuführen ist.

Ein deutlicher Hinweis auf die Beteiligung von Katecholaminen an Zellmigrationen wird auch von CARLSON, FOX & ABELL (1997) geliefert. In diesem tierexperimentellen Ansatz wurden Lymphozyten zunächst mit Katecholaminen in Kultur gebracht und anschließend markiert den Tieren appliziert. Es zeigte sich, dass die mit Katecholaminen vorinkubierten Zellen in größerer Anzahl innerhalb von ein bis zwei Stunden in Lymphknoten und Milz wanderten. Es besteht grundsätzlich die Möglichkeit, dass diese Zellen weniger sensitiv gegenüber endogenen Katecholaminen sind, weil höhere Exposition gegenüber Katecholaminen bekanntlich die α_2 -Rezeptorsensitivität auf Lymphozyten reduziert (CARLSON ET AL., 1996). Aus diesem Grund könnten die Kontrollzellen ggf. langsamere Wanderungsprozesse als die präinkubierten Zellen aufweisen. Generell scheinen die Mechanismen komplizierter Natur zu sein, da die Arbeitsgruppe den Isoproterenol-induzierten Effekt eines schnelleren homings markierter Zellen nicht über die Gabe der α_2 -Adrenorezeptorantagonisten Propranolol oder Timolol antagonisieren konnte. Des weiteren stellt die Arbeit heraus, dass Katecholamine offensichtlich keinen allzu großen Einfluß auf die Expression von Adhäsionsmolekülen ausüben. Keinerlei Evidenz ergab sich für katecholaminvermittelte Änderung von L-Selektin oder LFA-1-Expression auf Lymphozyten, desgleichen keinerlei Einfluß auf VLA-4 oder

LFA-1 auf periphere T-Zellen (CARLSON ET AL., 1996).

Der Frage nach katecholaminergem Einfluß auf Adhäsionsmoleküle hinsichtlich der doch starken Veränderungen natürlicher Killerzellen gingen BENSCHOP, SCHEDLOWSKI, WIENECKE, JACOBS & SCHMIDT (1997) nach. Natürliche Killerzellen exprimieren eine große Anzahl von Adhäsionsmolekülen (L-Selektin, CD43, CD29 und CD18) (TRINCHIERI, 1989). Des weiteren ist bekannt, dass die Stimulation des α_2 -Adrenorezeptors auf NK-Zellen eher die Adhäsion in vitro reduziert als diejenige des Rezeptors auf der Endothelzelle (BENSCHOP, NIJKAMP, BALLIEUX & HEIJNEN, 1994).

Die Rolle der Milz ist in diesem Zusammenhang kompliziert. Studien an Patienten ohne Milz zeigen, dass die NK-Zellmobilisation nach Katecholaminen durchaus im Zuge pharmakologischer Exposition oder Streßbelastung eintreten kann (SCHEDLOWSKI ET AL., 1996). Diese Befunde stehen aber auch in Einklang mit den Kenntnissen zum Ort des homings von NK-Zellen, welcher wohl in hohem Maße nicht-lymphoide Organe umfasst. Für die möglichen Mechanismen wird angenommen:

- 1) dass Katecholamine zu einem "shedding" von Adhäsionsmolekülen führen,
- 2) die Affinität entsprechender Adhäsionsmoleküle unter Katecholaminen reduziert ist, und
- 3) intrazelluläre Prozesse für eine reduzierte Adhäsion katecholaminerg bedingt verantwortlich sind.

„Shedding“ ist ein häufig zu beobachtender Regulationsprozess, der auch bei verschiedenen Krankheiten von Bedeutung ist (GEARING & NEWMAN, 1993).

Es ist bereits erwähnt worden, dass nach Adrenalininfusion keine Unterschiede hinsichtlich der Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle auf NK-Zellen eintreten. Des weiteren ist die Frage, ob eine Adrenalininfusion ggf. Einfluß auf den Prozeß des shedding ausübt, was sich in veränderten Spiegeln löslicher Adhäsionsmoleküle zeigen müsste. SCHEDLOWSKI ET AL. (1996) demonstrieren jedoch, dass sich keinerlei signifikante Veränderungen löslicher Spiegel von VCAM-1 oder ICAM-1 oder E-Selektin nach Katecholaminbehandlung nachweisen lassen.

Lösliche Zelladhäsionsmoleküle können aber auch durch Bindung an entsprechende Liganden kompetitiv einer Leukozytenendothelbindung im Wege stehen (GEARING & NEWMAN, 1993). Unter Verwendung akuter körperlicher Belastung gehen auch REHMAN, MILLS, CARTER, CHOU, THOMAS & MAISEL (1997) der Frage nach, inwieweit eine katecholamininduzierte Lymphozytose über ein shedding von Adhäsionsmolekülen erklärt werden kann. In dieser Arbeit zeigt sich, dass körperliche Anstrengung den löslichen ICAM-1-Spiegel erhöht, und dass dieser Effekt nach Vorbehandlung mit Betablockern ausbleibt. Keinerlei Hinweise auf die Beteiligung des löslichen E-Selektin-Adhäsionsmoleküls konnte nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse bestätigen die Befunde anderer Gruppen, die nach starker körperlicher Betätigung extreme Anstiege in der natürlichen Killerzellzahl des peripheren Blutes aufwiesen und diese mit z.B. nonselektiven Betablockern wie Propanolol, nicht aber β_1 -selektiven Antagonisten (Metoprolol) unterbinden konnten (MURRAY, IRWIN, REARDEN, ZIEGLER, MOTULSKY & MAISEL, 1992). Die offensichtliche Diskrepanz zu der zuvor zitierten Arbeit von BENSCHOP und Mitarbeitern (1997) sieht die Arbeitsgruppe in der unterschiedlichen Herangehensweise: Während BENSCHOP ET AL. ein in-vitro-Adhäsionsmodell verwandten, ist die Arbeit von REHMAN ET AL. (1997) in vivo durchgeführt worden.

Glukokortikoide und Zellmigration

Bevor dargestellt wird, welche fundamentale Rolle Glukokortikoide auf das Migrationsverhalten von Leukozyten ausüben, soll zunächst festgehalten werden, dass sich die Sichtweise der immunologischen Wirkungen von Glukokortikoiden in den letzten Jahren grundlegend geändert hat. Zweifelsohne sind exogene, therapeutische Gaben von Glukokortikoiden immunsuppressiv. Dieses Phänomen ist gut bekannt hinsichtlich ihrer antiinflammatorischen Wirkungen (CUPPS & FAUCI, 1982; MUNCK, GUYRE & HOLBROOK, 1984; CHROUSOS, 1995). Viele der Erkenntnisse zur immunmodulatorischen Wirkung von Glukokortikoiden stammen jedoch aus dem pharmakologischen, non-physiologischen Konzentrationsbereich. Synthetische Glukokortikoide z.B. unterscheiden sich von endogen ausgeschütteten hinsichtlich ihrer Bindung an das Kortikosteroidbindungsglobulin (CBG), unterschiedlicher gewebsspezifischer Mechanismen und ihrer Affinität für diverse Glukokortikoidrezeptoren (WILCKENS, 1995). Dennoch hat sich ein Dogma der immunsuppressiven Wirkungen von Glukokortikoiden ergeben, bei dem gerne ignoriert wird, dass physiologische Konzentrationen durchaus auch Immunfunktionen steigern können (s.u.).

Dennoch, ein interessanter Bereich immunsuppressiver Wirkungen ist in dem Phänomen zu sehen, dass Glukokortikoide die Produktion des transforming growth factors (TGF- β) induzieren. TGF- β , welches von T-Zellen sezerniert wird, könnte in diesem Zusammenhang eine Rolle in der autokrinen Kontrolle von ruhenden oder auch aktivierenden T-Zellen spielen. Darüber hinaus wird angenommen, dass eine erhöhte Verfügbarkeit von TGF- β T-Zellen an der Migration zum Entzündungsherd hindert. Glukokortikoide spielen offensichtlich auch eine protektive Rolle in der Akutphasenreaktion. Zusammen mit IL-6 induzieren sie das Akutphasenprotein 1-saures-Glukoprotein (AGP) (BAUMANN & GAULDIE, 1994). Auch für die Sepsis ist bekannt, dass die Infusion von Glukokortikoiden vor Gabe von Endotoxin die Plasma-IL-6-, Fibrinogen- und C-reaktiven Proteinspiegel

deutlich erhöht (ROCK, COYLE & KEOGH, 1992). Vor diesem Hintergrund wird angenommen, dass eine inadäquate Glukokortikoidreaktion oder Interaktion zwischen Glukokortikoiden und Interleukin-6 während einer Sepsis oder eines septischen Schocks zu einer insuffizienten Freisetzung von Akutphasenproteinen führt.

Natürlich vorkommende Glukokortikoide (Hydrokortison) haben häufig stimulierende Effekte auf viele Zellklassen. Darüber hinaus ist die Stimulation in einem Bereich beobachtbar, der der Glukokortikoidausschüttung während einer Stressreaktion entspricht. Es ist bekannt, dass sich die T-Helfer-1- und T-Helfer-2-Populationen hinsichtlich ihrer Zytokinfreisetzung unterscheiden. Darüber hinaus weiß man, dass Autoimmunerkrankungen in erster Linie zum T-Helfer-1-Muster, Allergien hingegen eher auf das T-Helfer-2-Muster bezogen werden können (ANDERSON & COYLE, 1994; MOSMANN & SAD, 1996). Glukokortikoide scheinen ganz offensichtlich Einfluß auf die T-Helfer-1 / T-Helfer-2-Balance auszuüben, indem die T-Helfer-2-Zytokinreaktionen favorisiert werden. HERMANN, TOVAR, BECK & SHERIDIAN (1994) demonstrieren, dass virale und bakterielle Infektionen mit Anstiegen der Glukokortikoide verbunden sind und daher längerfristige Veränderungen der T-Helfer-1 / T-Helfer-2-Balance mit sich bringen können. Da virale Infektionen in erster Linie durch eine T-Helfer-1-ähnliche Reaktionslage gekennzeichnet sind, könnte davon ausgegangen werden, dass die T-Helfer-2-Favorisierung durch Glukokortikoide eine Balance der beiden Komponenten wiederherstellt und somit der Gefahr der Entstehung von Autoimmunprozessen entgegenwirkt.

Inhibitorische Effekte von Glukokortikoiden auf die Produktion und Freisetzung verschiedener Zytokine (IL-1-a, IL-1-b, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- und TNF) sind in der Literatur gut dokumentiert (MUNCK & NARAY-FEJES-TOTH, 1994). Es ist aber auch festzuhalten, dass andere Zytokine offensichtlich nicht beeinflusst sind durch Glukokortikoide. Dies gilt z.B. für den Makrophagenkolonie-stimulierenden Faktor (M-CSF).

Hinsichtlich der Konzentrationen von Interleukin-4 (IL-4) liegen unterschiedliche Befunde vor. Zwischenzeitlich hat sich das Bild der Einflüsse von Glukokortikoiden auf Zytokinrezeptorexpression jedoch geändert. Die neuere Arbeit von WIEGERS & REUL (1998) faßt sehr übersichtlich zusammen, dass Glukokortikoide durchaus auch einen stimulierenden Einfluss auf die Expression der Zytokin-mRNA oder die Proteinkonzentration selbst haben können. Die Befunde mögen zunächst widersprüchlich erscheinen, weisen jedoch in eine Richtung, die der Bedeutung der Glukokortikoide im Zusammenhang mit immunologischen Veränderungen wohl recht nahe kommen. Es geht nämlich weniger um die Frage nach stimulierenden oder suppressiven Effekten, sondern viel mehr um die mögliche Rolle zur Einhaltung oder Wiederherstellung eines homöostatischen Prinzips, vermittelt durch Glukokortikoide. WIEGERS & REUL (1998) gehen in einer neueren These davon aus, dass die Rolle der Glukokortikoide in erster Linie darin besteht, den Verlauf einer biologischen Reaktion optimal zu gestalten, wobei „optimal“ auf einer *zeitlichen* Dimension zu sehen ist. Verzögerte, nicht adäquate, oder sogar für den Organismus gefährliche immunologische Reaktionen könnten nach dieser Vorstellung durch eine adäquate Kortikosteroidantwort im Sinne eines homöostatischen Prinzips moduliert werden. Das neuere Verständnis des Einflusses von Glukokortikoiden kommt damit der ursprünglichen Vorstellung von Selye wieder sehr nahe:

"Teleologically speaking, increased corticotropic hormone production is a useful reaction to stress since it augments the corticoid hormone production of the adrenals and thus raises non-specific resistance" (SELYE, 1946).

Die bereits beschriebene Favorisierung des T-Helfer-2-Zytokinmusters durch Glukokortikoide und die damit verbundene erhöhte Freisetzung von Interleukin-4 wird neuerdings auch hinsichtlich der Allergietherapie neu diskutiert. Obgleich Glukokortikoide von besonderer Effektivität in der Behandlung von allergischen Erkrankungen sind, weiß man, dass eine chronische Verabreichung von Kortikosteroiden u.U. den Verlauf der Erkrankung verschlechtert, was eben über die

damit verbundene erhöhte Interleukin-4-Freisetzung erklärt werden könnte (BLÖTTA, DEKRUUFF & UMETSU, 1997), da IL-4 besonders stark die IgE-Produktion anzuregt. WIEGERS & REUL (1998) gehen noch weiter und stellen die Rolle der Glukokortikoide als Behandlung für Sepsis und septischen Schock grundsätzlich in Frage. Patienten mit diesen Erkrankungen haben üblicherweise erhöhte Spiegel der Zytokine TNF α , IL-6 und IL-1 β . Sie beschreiben des weiteren, dass die Mortalitätsrate durch Sepsis oder septischen Schock in den letzten Jahren relativ hoch geblieben ist und zwischen 40 - 90% variiert (BONE ET AL., 1987). Darüber hinaus wird bemerkt, dass Glukokortikoide die Mortalitätsrate auch nicht wesentlich beeinflusst haben. Ggf. ist dies erklärbar durch den Umstand, dass - wie bereits erwähnt - Glukokortikoide eben einen stimulierenden Einfluß auf die Rezeptorexpression oder auch auf die Wirkungen proinflammatorischer Zytokine (z.B. TNF- α , IL-6 und IL-1- β) ausüben können und somit den Verlauf der Erkrankung sogar negativ beeinflussen könnten.

Vor dem Hintergrund der wahrscheinlich primären Rolle der Glukokortikoide im Immungeschehen (nämlich Homöostase zu gewährleisten) soll abschließend auch auf die Rolle der Glukokortikoide im Bereich der Zellmigration eingegangen werden.

Die frühen Arbeiten von FAUCY & DALE (1975) sind ja bereits in der Einleitung erwähnt worden. Kurz wiederholt, fanden sie schon damals nach Cortikosteroidapplikation eine zwar kurz andauernde, aber doch sehr deutliche Lymphopenie, die insbesondere T-Zellen, aber auch andere Lymphozyten einschloß. Heute weiß man, dass dieses Phänomen nicht auf Apoptose, sondern auf Migrationen im Sinne einer Redistribution von Lymphozyten in lymphoide Organe erklärt werden kann. COX & FORD (1982) gehen davon aus, dass ein Effekt dieser Hormone in der Steigerung der Fähigkeit von Zellen liegt, vom Blutstrom in die Lymphknoten zu wandern. Ein anderer alternativer Mechanismus könnte jedoch auch (und dies kristallisiert sich in den neueren Arbeiten heraus) darin zu sehen sein, dass Glukokortikoide auf das vaskuläre Endothel einwirken und damit die

Adhäsion von peripheren Lymphozyten in lymphoiden Organen erhöhen. Dies ist auch aus klinischen Beobachtungen naheliegend, da bekannt ist, dass Lymphozyten und Monozyten unter Steroidtherapie weniger stark den Ort akuter Entzündungen erreichen (THOMPSON & VAN FURTH, 1970; CHUNG, SAMLOWSKI & DAYNES, 1986). Es darf aber nicht außer acht gelassen werden, dass nicht nur Glukokortikoide, sondern auch andere Hormone der Hypothalamus-Hypophysennebennierenrindenachse an dem Migrationsmuster von Lymphozyten beteiligt sind. So weiß man von ACTH, dass es über die Suppression von γ -Interferon direkt auf CD4+ Zellen wirkt (JOHNSON & TORRES, 1985), welches über eine erhöhte Bindung von T-Zellen an Endothelgewebe die Rezirkulation von Lymphozyten in die lymphoiden Organe erhöht (KIMBER, SPARSHOTT, BELL & FORD, 1987).

Betrachtet man die Befunde zum Mechanismus und zu den multiplen, auch hormonellen Einflüssen auf Zellmigrationsprozesse, könnte hinsichtlich der hier beschriebenen Effekte auf psychischen Stress die Modulation des interzellulären Adhäsionsmoleküls (ICAM-1) von grundsätzlicher Bedeutung sein.

ICAM-1 wird von Leukozyten und Endothelzellen exprimiert und spielt eine fundamentale Rolle auch im Bereich entzündlicher Erkrankungen. Des weiteren spielt es eine modulatorische Rolle für antigenpräsentierende Zellen in der Aktivierung MHC-II abhängiger T-Zellen, aber auch MHC-I vermittelter Zytotoxizität. ICAM-1 kann auf bestimmte Stimuli von der Zelle abgestoßen werden (shedding). Anhand verschiedener Patientengruppen weiß man, dass veränderte ICAM - Expressionen mit diversen Erkrankungen assoziiert sind. Zu diesen Erkrankungen zählen z.B. Tumorerkrankungen wie Melanome und Lymphome, Asthma und Autoimmunerkrankungen aber auch Arteriosklerose und Ischämien (VAN DE STOLPE & VAN DER SAAG, 1996).

Aus dem Bereich entzündlicher Erkrankungen liegen diverse Befunde über die Bedeutung von ICAM-1 vor. Bekannt ist, dass eine Stimulation der Synovialmembran von Fibroblasten über proinflammatorische Zytokine (TNF, IL-1 und IFN- γ) zu einer starken Adhäsion von Lymphozyten führt. Diese Reaktion läßt sich

durch vorherige Inkubation mit Dexamethason unterbinden (TESSIER, CATTARUZZI & MCCOLL, 1996), wobei das Ausmaß der Hemmung mit der durch Dexamethason induzierten Reduktion der Expression von VCAM-1 und ICAM-1 mRNA korreliert war. Auch bei asthmatischen Patienten, die im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöhte sICAM-Spiegel aufweisen, konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Glukokortikoiden (Prednisolon) die Konzentrationen deutlich reduzierte (SHIOTA, WILSON, MARUKAWA, ONO & KAJI, 1996). Ebenso wird im Bereich der Transplantationsimmunologie deutlich, dass Patienten mit Abstoßungsreaktionen höhere sICAM-Spiegel aufweisen als solche ohne Komplikationen dieser Art, und dass (hochdosierte) Kortikosteroidgabe diese wieder senken (NINOVA, KROM & WIESNER, 1995). Andere Arbeiten zeigen am Beispiel von in vitro Kulturen humaner Bronchialepithelzellen, dass Glukokortikoide eher VCAM-1 als ICAM-1 hemmen (ATSUTA, PLITT, BOCHNER & SCHLEIMER, 1999), und dass somit dem antiinflammatorischen Mechanismus von Glukokortikoiden eher die endotheliale VCAM-1 - Expression zu Grunde liegt. Glukokortikoide haben offensichtlich nicht nur einen hemmenden Einfluss auf ICAM-1 am Epithelgewebe.

Inwieweit dieses Phänomen von besonderer Bedeutung für CD8+ Zellen ist, kann bislang nicht beantwortet werden. Wichtig ist aber, dass eine Rolle der CD8+ Zellen für Autoimmunprozesse in den letzten Jahren sehr viel konkreter diskutiert wird. Insbesondere in Hinblick auf die Hypersensitivität des verzögerten Typs (delayed type hypersensitivity, DTH) weiß man, dass CD8+ Zellen die Mediatoren dieser Reaktionen bei Kontaktdermatitis, Asthma und einigen Autoimmunerkrankheiten sind. Die Unterschiede zwischen CD8+ und CD4+ Zellen vermittelter DTH ist in der unterschiedlichen Art und Weise zu sehen, wie Antigene den T-Zellen präsentiert werden. Extrazelluläre Antigene werden phagozytiert und CD4+ Zellen präsentiert (MHC-II abhängig). Internale (cytoplasmatische) Antigene hingegen werden MHC-I abhängig CD8+ Zellen präsentiert, wobei externe Antigene durchaus auch über den endogenen Weg an CD8+ Zellen gelangen können, die dann ihrerseits die DTH auslösen können (KALISH & ASKENASE, 1999).

Die Rolle des homing ist nach all den zitierten Befunden weit mehr als nur ein Epiphänomen. Die Tatsache, dass die Anzahl peripherer Lymphozyten lediglich 1% der Gesamtlymphozyten ausmacht, ist auch häufig als Argument einer geringen Bedeutsamkeit von Migrationsverhältnissen herangezogen worden. Dies macht jedoch insbesondere hinsichtlich der Theorie von BUTCHER & PICKER (1996) vom kompetitiven homing keinen Sinn mehr. Im Gegenteil, es wird mehr und mehr davon ausgegangen, dass dem Migrationsverhalten von Lymphozyten eine fundamentale Rolle in der Vermittlung immunologischer Prozesse und homöostatischer Prinzipien zukommt:

"It is possible that some leukocytes migrate to certain compartments to be protected from potential deleterious effects of stress. Alternatively, other leukocytes may migrate to immune compartments which serve as "battle stations" where leukocytes are likely to encounter Ags, pathogens, or other activated immune cells. In either case, stress - induced redistribution of immune cells may have significant consequences for the ability of the immune system to perform its surveillance and effector functions...

.. The modulation of immune cell distribution by acute stress may be an adaptive response designed to enhance immune vigilance and increase the capacity of the immune system to respond to challenge in immune compartments (such as skin and epithelia of lung, gastrointestinal and urogenital tracts), which serve as major defense barriers for the body. Thus endocrine mediators released during stress may serve to enhance immune preparedness for potential (or ongoing) immune challenge."

(DHABAR, ET AL., 1995)

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten deutlich auf, dass auch bei psychischer Belastung ein starkes Migrationsverhalten von Lymphozyten beobachtbar wird. Dies ist voraussichtlich über die Anstiege von Katecholaminen vermittelt. Der Ausschüttung von Cortisol kommt eine wichtige Funktion in der Rückregulation von CD8⁺ Zellen zu, und es ist wahrscheinlich, dass dieses Hormon entweder diese Zellpopulation selektiv anspricht oder Einfluss auf Adhäsionsprozesse am HEV der lymphoiden Organe auslöst. Dies würde unter der Voraussetzung, dass CD56⁺ Zellen in andere als lymphoide Organe einwandern, den Mangel der

Cortisolblockade hinsichtlich des Effekts auf NK-Zellen erklären können. Inwieweit Cortisol im Zuge einer Stressantwort Einfluss auf Adhäsionsmoleküle wie ICAM-1 ausübt oder ggfs. über TGF- β eher am Epithel greift müssen zukünftige Arbeiten zeigen.

5. Zusammenfassung

Aus der Literatur im Bereich der Psychoneuroimmunologie ist bekannt, dass kurzfristige physische aber auch psychische Belastung zu mannigfaltigen immunologischen Veränderungen führt. Besonders deutlich und reliabel sind Anstiege der Anzahl peripherer CD8+ Zellen und solcher der Natürlichen Killerzellen berichtet worden. Weitere Arbeiten haben darüber hinaus über pharmakologische Manipulation der Stressantwort demonstrieren können, dass die stressbedingte Katecholaminausschüttung für dieses Phänomen verantwortlich gemacht werden kann. Wichtig ist aber auch, dass die Veränderungen von sehr kurzer Dauer sind und die Frage, was die erhöhte Anzahl peripherer CD8+ und CD56+ Zellen in der Poststressphase zurückreguliert, bislang unbeantwortet blieb.

In der hier vorliegenden Arbeit ist der Fragestellung nachgegangen worden, ob die stressbedingte Cortisolantwort ggfs. am Redistributionsverhalten peripherer CD8+ und CD56+ Zellen beteiligt ist. Unter Verwendung des klassischen Dexamethasonhemmtests wurde die endogene Cortisolausschüttung im Rahmen des Stressparadigmas der „Öffentliche Rede“ im Vergleich zu einer Placebo-behandelten Kontrollgruppe unterbunden. Insgesamt wurden 80 männliche gesunde Versuchsteilnehmer innerhalb einer Belastungs- und Kontrollbedingung sowie jeweils unter Placebo vs. Dexamethason untersucht.

Die Ergebnisse bestätigen nicht nur sehr deutlich die bislang beschriebenen Befunde zur stressinduzierten Veränderung peripherer Lymphozyten, sondern belegen, dass eine Cortisolantwort unter Stress die Rückregulation der Anzahl peripherer CD8+ nicht aber CD56+ Zellen beeinflusst. Die Ergebnisse werden auf dem Hintergrund unterschiedlichen Homing - Verhaltens verschiedener zellulärer Komponenten des Immunsystems diskutiert, wobei ein Schwerpunkt auf die möglichen Mechanismen Cortisol - induzierter Variationen von Adhäsionsmolekülexpression am Endothelgewebe gelegt wird.

6. Literatur

- Abo, T., Kawate, T., Itoh, K. & Kumagai, K. (1981). Circadian rhythms of human T, B, and NK cell traffic in the peripheral blood. *Journal of Immunology*, **126**, 1360-1365.
- Ackerman, K.D., Martino, M., Heyman, R., Moyna, N.M. & Rabin, B.S. (1996). Immunologic response to acute psychological stress in MS patients and controls. *Journal of Neuroimmunology*, **68**, 85-94.
- Al'Absi, M., Bongard, S., Buchanan, T., Pincomb, G., Licinio, J. & Lovallo, W.R. (1997). Cardiovascular and neuroendocrine adjustment to public speaking and mental arithmetics. *Psychophysiology*, **34**, 266-275.
- Altmann, I. & Taylor, D.A. (1973). *Social penetration: The development of interpersonal relationships*. New York: Rinehart & Winston.
- Anderson, G.P. & Coyle, A.J. (1994). TH2 and 'TH2-like' cells in allergy and asthma: pharmacological perspectives *Trends in Pharmacological Sciences*, **15**, 324-332.
- Atsuta, J., Plitt, J., Bochner, B.S. & Schleimer, R.P. (1999). Inhibition of VCAM-1 expression in human bronchial epithelial cells by glucocorticoids. *Am J Respir Cell Mol Biol*, **20**, 643-650.
- Bassett, J.R., Marshall, P.M. & Spillane, R. (1987). The physiological measurement of acute stress (public speaking) in bank employees. *International Journal of Psychophysiology*, **5**, 265-273.
- Baumann, H. & Gauldie, J. (1994). The acute phase response. *Immunology Today*, **15**, 74-80.
- Baumann, S. (1992). *Differenzierung mentaler und emotionaler Belastungsfaktoren anhand Befindens- und vegetativer Variablen*. Freie Universität Berlin: Dissertation
- Benschop, R.J., Nieuwenhuis, E.E., Tromp, E.A., Godaert, G.L., Ballieux, R.E. & van-Doornen, L.J. (1994). Effects of beta-adrenergic blockade on immunologic and cardiovascular changes induced by mental stress. *Circulation*, **89**, 762-769.
- Benschop, R.J., Nijkamp, F.P., Ballieux, R.E. & Heijnen, C.J. (1994). The effects of β -adrenoceptor stimulation on adhesion of human natural killer cells to cultured endothelium. *British Journal of Pharmacology*, **113**, 1311-1316.

- Benschop, R.J., Schedlowski, M., Wienecke, H., Jacobs, R. & Schmidt, R.E. (1997). Adrenergic control of natural killer cell circulation and adhesion. *Brain, Behavior, and Immunity*, **11**, 321-332.
- Benshop, R.J., Oostveen, F.G., Heijnen, C.J. & Ballieux, R.E. (1993). β 2-adrenergic stimulation causes detachment of natural killer cells from cultured endothelium. *European Journal of Immunology*, **23**, 3242-3247.
- Binns, R.M. & Licence, S.T. (1985). Patterns of migration of labelled blood lymphocyte subpopulations: evidence for two types of Peyer's patch in the young pig. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **186**, 661
- Blotta, M.H., DeKruyff, R.H. & Umetsu, D.T. (1997). Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4⁺ lymphocytes. *Journal of Immunology*, **158**, 5589-5595.
- Bolm-Audorff, U., Schwämmle, J., Ehlenz, K., Koop, H. & Kaffarnik, H. (1986). Hormonal and cardiovascular variations during public speaking. *European Journal of Applied Physiology*, **54**, 669-674.
- Bone, R.C., Fisher, C.J.; Clemmer, T.P.; Slotman, G.J.; Metz, C.A. & Balk, R.A. (1987). A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New England Journal of Medicine*, **317**, 653-658.
- Boucsein, W. (1995). Die elektrodermale Aktivität als Emotionsindikator. In G. Debus, G. Erdmann & K.W. Kallus (Eds.), *Biopsychologie von Stress und emotionalen Reaktionen*. (pp. 143-162). Göttingen: Hogrefe.
- Boucsein, W. & Wendt-Suhl, G. (1980). An experimental investigation of elements involved in the anticipation of public speaking. *Archiv für Psychologie*, **133**, 149-156.
- Börgens, S.M. (1986). *Öffentliches Sprechen. Untersuchung einer experimentellen Beanspruchungssituation*. Aachen: Dissertation.
- Buske-Kirschbaum, A., Jobst, S., Wüstmans, A., Kirschbaum, C., Rauh, W. & Hellhammer, D. (1997). Attenuated free cortisol response to psychosocial stress in children with atopic dermatitis. *Psychosomatic Medicine*, **59**, 419-426.
- Butcher, E.C. & Picker, L.J. (1996). Lymphocyte Homing and Homeostasis. *Science*, **272**, 60-66.
- Butcher, E.C., Stevens, S.K., Reichert, R., Scollay, R.G. & Weissman, I.L. (1982). Lymphocyte homing. In K.Sell (Ed.), *Recent Advances in Mucosal Immunity*. (pp. 2-24). New York: Raven.

- Cacioppo, J.R., Rourke, P.A., Marshall-Goodell, B.S., Tassinary, L.G. & Baron, R.S. (1990). Rudimentary physiological effects or mere observation. *Psychophysiology*, **27**, 186.
- Cacioppo, J.T. (1994). Social neuroscience: autonomic, neuroendocrine, and immune responses to stress. *Psychophysiology*, **31**, 113-128.
- Cahill, R.N.P., Poskitt, D.C., Hay, J.B., Heron, I. & Trnka, Z. (1979). The migration of lymphocytes in the fetal lamb. *European Journal of Immunology*, **9**, 251-253.
- Camerini, D., James, S.P., Stanenkov, I. & Seed, B. (1989). Leu8/TQ1 is the human equivalent of the MEL-14 lymph node homing receptor. *Nature*, **342**, 78-82.
- Carlson, S.L., Beiting, D.J., Kiani, C.A., Abell, K.M. & McGillis, J.P. (1996). Catecholamines decrease lymphocyte adhesion to cytokine-activated endothelial cells. *Brain, Behavior, and Immunity*, **10**, 55-67.
- Carlson, S.L., Fox, S. & Abell, K.M. (1997). Catecholamine Modulation of Lymphocyte Homing to Lymphoid Tissues. *Brain, Behavior, and Immunity*, **11**, 307-320.
- Chiapelli, F., Gormley, G., Gwirtsman, H.E., Lowy, M., Nguyen, L., Nguyen, L.D., Esmail, I., Strober, M. & Weiner, H. (1992). Effects of intravenous and oral dexamethasone on selected lymphocyte subpopulations in normal subjects. *Psychoneuroendocrinology*, **17**, 145-152.
- Chiapelli, F., Gwirtsman, H.E., Lowy, M., Gormley, G., Nguyen, L.D., Nguyen, L., Popow, J., Esmail, I., Fahey, J.L. & Strober, M. (1991). Pituitary - adrenal - immune system in normal subjects and in patients with anorexia nervosa: The number of circulating helper T-lymphocytes (CD4) expressing the homing receptors Leu8 is regulated in part by pituitary - adrenal products. *Psychoneuroendocrinology*, **16**, 423-432.
- Chin, Y.-H., Sackstein, R. & Cai, J.-P. (1991). Lymphocyte-homing receptors and preferential migration pathways. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **196** (4), 374-380.
- Chrousos, G.P. (1995). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *New England Journal of Medicine*, **332**, 1351-1362.

- Chung, H.T., Samlowski, W.E. & Daynes, R.A. (1986). Modification of the murine immune system by glucocorticoids: Alteration of the tissue localization properties of circulating lymphocytes. *Cellular Immunology*, **101**, 571-585.
- Claman, H.N. (1972). Corticosteroids and lymphoid cells. *New England Journal of Medicine*, **287**, 388
- Collins, A., Eneroth, P. & Landgren, B.M. (1985). Psychoneuroendocrine stress responses and mood as related to the menstrual cycle. *Psychosomatic Medicine*, **47**, 512-527.
- Coombe, D.R. & Rider, C.C. (1989). Lymphocyte homing receptors cloned: a role for anionic polysaccharides in lymphocyte adhesion. *Immunology Today*, **10**, 289-291.
- Cox, J.H. & Ford, W.L. (1982). The migration of lymphocytes across specialized vascular endothelium: IV. Prednisolone acts at several points on the recirculation pathway of lymphocytes. *Cellular Immunology*, **66**, 407-422.
- Crabtree, G.R., Munck, A. & Smith, K.A. (1980). Glucocorticoids and lymphocytes. II. Cell cycle dependent changes in glucocorticoid receptor content. *Journal of Immunology*, **125**, 13
- Crary, B., Hauser, S.L., Borysenko, M., Kutz, I., Hoban, C., Ault, K.A., Weiner, H.L. & Benson, H. (1983). Epinephrine induced changes in the distribution of lymphocyte subsets in peripheral blood of humans. *Journal of Immunology*, **131**, 1178-1181.
- Cupps, T.R. & Fauci, A.S. (1982). Corticosteroid-Mediated Immunoregulation in Man. *Immunological Reviews*, **65**, 133-155.
- Dhabar, F.S., Miller, A.H., McEwen, B.S. & Spencer, R.L. (1995). Effects of stress on immune cell distribution. *Journal of Immunology*, **154**, 5511-5527.
- Dimsdale, J. & Moss, J. (1980). Simultaneous radioenzymatic determination of plasma and tissue adrenaline and noradrenalin, and dopamine levels in the femtomole range. *Journal of the American Medical Association*, **243**, 340-342.
- Dimsdale, J.E. & Moss, J. (1980). Short-term catecholamine response to psychological stress. *Psychosomatic Medicine*, **42**, 493-497.
- Droppleman, L.F. & McNair, D.M. (1971). An experimental analog of public speaking. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, **36**, 91-96.

- Duijvestijn, A.M., Horst, E., Pals, S.T., Rouse, B.N., Steere, A.C., Picker, L.J., Meijer, C.J.L.M. & Butcher, E.C. (1988). High endothelial differentiation in human lymphoid and inflammatory tissues defined by monoclonal antibody HECA-452. *American Journal of Pathology*, **130**, 147
- Duijvestijn, A.M., Kerkhove, M., Bargatze, R.F. & Butcher, E.C. (1987). Lymphoid tissue- and inflammation-specific endothelial cell differentiation defined by monoclonal antibodies. *Journal of Immunology*, **138**, 713-719.
- Dvorak, A.M., Mihm, M.C. & Dvorak, H.F. (1976). Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in man. II. Ultrastructural alterations affecting the microvasculature and the tissue mast cells. *Laboratory Investigations*, **34**, 179-191.
- Ebnet, K. & Vestweber, D. (1999). Molecular mechanisms that control leukocyte extravasation. *Histochemistry of Cell Biology*, **112**, 1-23.
- Eguchi, K., Kawakami, K., Nakashima, M., Ida, H., Sakito, S., Matsuoka, N., Terada, K., Sakai, Y., Kawabe, Y. & Fukuda, T. (1992). Interferon-alpha and dexamethasone inhibit adhesion of T-cells to endothelial cells and synovial cells. *Clinical and Experimental Immunology*, **88**, 448
- Erdmann, G. (1983). *Zur Beeinflussung emotionaler Prozesse durch vegetative Variationen*. Weinheim: Beltz.
- Erdmann, G. & Baumann, S. (1996). Sind psychophysiologische Veränderungen im Paradigma "Öffentliches Sprechen" Ausdruck emotionaler Belastung? *Zeitschrift für Experimentelle Psychologie*, **18**, 224-255.
- Erdmann, G., Janke, W. & Bispin, R. (1984). Wirkungen und Vergleich der Wirkungen von vier experimentellen Belastungssituationen. *Zeitschrift für Experimentelle und Angewandte Psychologie*, **31**, 521-543.
- Erdmann, G., Janke, W., Kallus, K.W., Nutz, B. & Schlömer, P. (1984). Untersuchung zur Modifikation der psychophysiologischen Reaktionen in einer Belastungssituation durch Erfahrung. *Archiv für Psychologie*, **136**, 301-315.
- Erdmann, G. & Voigt, K.-H. (1995). Vegetative und endokrine Reaktionen im Paradigma "Öffentliches Sprechen": Was indizieren sie? In G. Debus, G. Erdmann & K.W. Kallus (Eds.), *Biopsychologie von Stress und emotionalen Reaktionen*. (pp. 113-128). Göttingen: Hogrefe.
- Fauci, A.S. & Dale, D.C. (1975a). Alternate - day prednisone therapy and human lymphocyte subpopulations. *Journal of Clinical Investigation*, **55**, 22-32.

- Fauci, A.S. & Dale, D.C. (1975b). The effect of hydrocortisone on the kinetics of normal human lymphocytes. *Blood*, **46**, 235-243.
- Fauci, A.S., Dale, D.C. & Balow, J.E. (1976). Glucocorticoid therapy: Mechanisms of action and clinical considerations. *Annals of Internal Medicine*, **84**, 304-315.
- Felten, D.L., Felten, S.Y., Bellinger, D.L., Carlson, S.L., Ackerman, K.D., Adden, K.S., Olschowka, J.A. & Livnat, S. (1987). Noradrenergic sympathetic neural interaction with the immune system. Structure and function. *Immunological Reviews*, **100**, 225-260.
- Ferriani, R.A. (1985). Effect of venipuncture stress on plasma prolactin levels. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*, **23**, 459-462.
- Ford, W.L. (1969). The traffic of lymphocytes. *Cell and Tissue Kinetics*, **2**, 171.
- Fowles, D.C. (1986). The psychophysiology of anxiety and hedonic affect: Motivational specificity. In B.F. Shaw, Z.V. Segal & T.M. Vallis (Eds.), *Anxiety Disorders*. (pp. 51-66). New York: Plenum Press.
- Gallatin, W.M., Weissman, I.L. & Butcher, E.C. (1983). A cell-surface molecule involved in organ- specific homing of lymphocytes. *Nature*, **304**, 30-34.
- Gearing, A.J.H. & Newman, W. (1993). Circulating adhesion molecules in disease. *Immunology Today*, **14**, 506-512.
- Geer, J.H. (1966). The development of a scale to measure fear. *Behavior Research and Therapy*, **3**, 45-53.
- Gerritsen, W., Heijnen, C.J., Wiegant, V.M., Bermond, B. & Frijda, N.H. (1996). Experimental social fear: immunological, hormonal, and autonomic concomitants. *Psychosomatic Medicine*, **58**, 273-286.
- Gowans, J.L. (1962). The fate of parental strain small lymphocytes in F1 hybrid rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **99**, 432-455.
- Gowans, J.L. & Knight, E.J. (1964). The route of recirculation of lymphocytes in rat. *Proceedings of the Royal Society Series B*, **159**, 257.
- Graeff, F.G., Zuardi, A.W., Giglio, J.S., Lima Filho, E.C. & Karniol, I.G. (1985). Effect of metergoline on human anxiety. *Psychopharmacology Berlin*, **86**, 334-338.
- Grossman, C.J. (1985). Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science*, **227**, 257-261.

- Hall, J.G., Hopkins, J. & Orlans, E. (1977). Studies on the lymphocytes of sheep.-III. Destination of lymph-borne immunoblasts in relation to their tissue of origin. *European Journal of Immunology*, **7**, 30-37.
- Hamann, A., Jablonski-Westrich, D., Scholz, K.-U., Duijvestijn, A.M., Butcher, E.C. & Thiele, H.-G. (1988). Regulation of lymphocyte homing.-I. Alterations in homing receptor expression and organ-specific high endothelial venule binding of lymphocytes upon activation. *Journal of Immunology*, **140**, 737-743.
- Hennig, J. (1998). *Psychoneuroimmunologie*. Göttingen: Hogrefe.
- Hennig, J., Friebe, J., Ryl, I., Krämer, B. & Böttcher, J. (2000). Upright posture influences salivary cortisol. *Psychoneuroendocrinology*, **25**, 69-83.
- Herbert, T.B., Cohen, S., Marsland, A.L., Bachen, E.A., Rabin, B.S., Muldoon, M.F. & Manuck, S.B. (1994). Cardiovascular reactivity and the course of immune response to an acute psychological stressor. *Psychosomatic Medicine*, **56**, 337-344.
- Hermann, G., Tovar, C.A., Beck, F.M. & Sheridan, J.E. (1994). Kinetics of glucocorticoid response to restraint stress and/or experimental influenza viral infection in two inbred strains of mice. *Journal of Neuroimmunology*, **49**, 25-33.
- Hetem, L.A., de Souza, C.J., Guimaraes, F.S., Zuardi, A.W. & Graeff, F.G. (1993). D-fenfluramine reduces anxiety induced by simulated public speaking. *British Journal of Pharmacology*, **26**, 971-974.
- Hoffmann, S.G., Ehlers, A. & Roth, W.T. (1995). Conditioning theory: a model for the etiology of public speaking anxiety ? *Behavior Research and Therapy*, **33**, 567-571.
- Holt, P.G., Kees, U.R., Schon-Hegrad, M.A., Rose, A., Ford, J., Bilyk, N., Bowman, R. & Robinson, B.W.S. (1988). Limiting-dilution analysis of T cells extracted from solid human lung tissue: comparison of precursor frequencies for proliferative responses and lymphokine production between lung and blood T cells from individual donors. *Immunology*, **64**, 649
- Hynes, R.O. (1987). Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell*, **48**, 549-554.
- Jalkanen, S., Reichert, R., Gallatin, M., Bargatze, R.F., Weissman, I.L. & Butcher, E.C. (1986). Homing receptors and the control of lymphocyte migration. *Immunological Reviews*, **91**, 39-60.

- Janke, W. & Debus, G. (1978). *Die Eigenschaftswörterliste*. Göttingen: Hogrefe.
- Johnson, H.M. & Torres, B.A. (1985). Regulation of lymphokine production by arginine vasopressin and oxytocin: Modulation of lymphocyte function by neurohypophyseal hormones. *Journal of Immunology*, **135**, 773-775.
- Kalish, R.S. & Askenase, P.W. (1999). Molecular mechanism of CD8+ T cell mediated delayed hypersensitivity: implications for allergies, asthma and autoimmunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103**, 192-199.
- Kapczinski, F., Curran, H.V., Gray, J. & Lader, M. (1994). Flumazenil has an anxiolytic effect in simulated stress. *Psychopharmacology Berlin*, **114**, 187-189.
- Kieran, M.W., Blank, V., le Bail, O. & Israel, A. (1989). Lymphocyte homing. *Research in Immunology*, **140**, 399-450.
- Kimber, I., Sparshott, S.M., Bell, E.B. & Ford, W.L. (1987). The effects of interferon on the recirculation of lymphocytes in the rat. *Immunology*, **60**, 585-591.
- Kirschbaum, C., Kudielka, B.M., Gaab, J., Schommer, N.C. & Hellhammer, D.H. (1999). Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosomatic Medicine*, **61**, 154-162.
- Kirschbaum, C., Pirke, K.M. & Hellhammer, D.H. (1993). The "Trier Social Stress Test" - A tool for investigation psychobiological stress responses in a laboratory setting. *Neuropsychobiology*, **28**, 76-81.
- Kurokawa, Y., Shinkai, S., Torii, J., Hino, S. & Shek, P.N. (1995). Exercise-induced changes in the expression of surface adhesion molecules on circulating granulocytes and lymphocytes subpopulations. *European Journal of Applied Physiology*, **71**, 245-252.
- Landmann, R.M., Durig, M., Gudat, F., Wesp, M. & Harder, I. (1985). -adrenergic regulation of the blood lymphocyte phenotype distribution in normal and splenectomized patients. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **187**, 1051-1062.
- Lanier, L.L., Engleman, E.G., Gatenby, P., Babcock, G.F., Warner, N.L. & Herzenberg, L.A. (1983). Correlation of functional properties of human lymphoid subsets and surface marker phenotypes using multiparameter analysis and flow cytometry. *Immunological Review*, **74**, 143-154.

- Lippman, M.E., Perry, S. & Thompson, E.B. (1974). Cytoplasmic glucocorticoid binding proteins in glucocorticoid-unresponsive human and mouse leukemic cell lines. *Cancer Research*, **34**, 1572
- Lovallo, W.R., Pincomb, G. & Brackett, D.J. (1990). Heart rate reactivity as a predictor of neuroendocrine responses to aversive and appetitive challenges. *Psychosomatic Medicine*, **52**, 17-26.
- Maisel, A.S., Harris, T., Reardon, A. & Martin, M.C. (1990). β -adrenergic receptors in lymphocyte subsets after exercise: Alterations in normal individuals and patients with congestive heart failure. *Circulation*, **82**, 2003-2010.
- Manuck, S.B., Cohen, S., Rabin, B.S., Muldoon, M.F. & Bachen, E.A. (1991). Individual differences in cellular immune responses to stress. *Psychological Sciences*, **2**, 111-115.
- Marlin, S.D. & Springer, T.A. (1987). Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). *Cell*, **51**, 813-819.
- Marsland, A.L., Manuck, S.B., Fazzari, T.V., Stewart, C.J. & Rabin, B.S. (1995). Stability of individual differences in cellular immune responses to acute psychological stress. *Psychosomatic Medicine*, **57**, 295-298.
- Mason, M.J. & Van Epps, D. (1989). Tumor necrosis factor, and C5a-mediated murine neutrophil migration by α -melanocyte-stimulating hormone. *Journal of Immunology*, **142**, 1646-1651.
- Matthews, K.A., Caggiula, A.R., McAllister, C.G., Berga, S.L., Owens, J.F., Flory, J.D. & Miller, A.L. (1995). Sympathetic reactivity to acute stress and immune response in women. *Psychosomatic Medicine*, **57**, 564-571.
- May, S. (1989). *Psychische Belastung und Hormonreaktionen: Hormonfreisetzung als Aspekt der Angstreaktion*. Ulm: Dissertation.
- Medawar, P.B. & Medawar, J.S. (1977). *The Science of Life*. New York: Harper.
- Meeusen, E., Gorrell, M.D. & Brandon, M.R. (1988). Presence of a distinct CD8+ and CD5- leucocyte subpopulation in the sheep liver. *Immunology*, **64**, 615

- Miller, P.F., Light, K.C., Bragdon, E.E., Ballenger, M.N., Herbst, M.C., Maixner, W., Hinderliter, A.L., Atkinson, S.S., Koch, G.G. & Sheps, D.S. (1993). Beta-endorphin response to exercise and mental stress in patients with ischemic heart disease. *Journal of Psychosomatic Research*, **37**, 455-465.
- Mills, P.J. & Dimsdale, J.E. (1996). The effects of acute psychologic stress on cellular adhesion molecules. *Journal of Psychosomatic Research*, **41**, 49-53.
- Mills, P.J., Haeri, S.L. & Dimsdale, J.E. (1995). Temporal stability of acute stressor-induced changes in cellular immunity. *International Journal of Psychophysiology*, **19**, 287-290.
- Mills, P.J., Karnik, R.S. & Dillon, E. (1997). L-Selectin Expression Affects T-Cell Circulation Following Isoproterenol Infusion in Humans. *Brain, Behavior, and Immunity*, **11**, 333-342.
- Mills, P.J., Ziegler, M.G., Dimsdale, J.E. & Parry, B.L. (1995). Enumerative immune changes following acute stress: effect of the menstrual cycle. *Brain, Behavior, and Immunity*, **9**, 190-195.
- Miyawaki, T., Taga, K., Nagoki, T., Seki, H., Suzuki, Y. & Taniguchi, N. (1984). Circadian changes of T-lymphocyte subsets in human peripheral blood. *Clinical and Experimental Immunology*, **55**, 618-622.
- Moore, T.C., Spruck, C.H. & Said, S.I. (1988). Depression of lymphocyte traffic in sheep by vasoactive intestinal peptide (VIP). *Immunology*, **64**, 475-478.
- Moore, T.C., Whitley, G.A., Lami, J.L. & Said, S.I. (1990). Substance P increases and prolongs increased CD4 lymphocytes from lymph nodes of sheep in vivo: Is it a mediator of immunological memory? *Immunopharmacology*, **20**, 207.
- Mosmann, T.R. & Sad, S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology Today*, **17**, 138-146.
- Munck, A., Guyre, P.M. & Holbrook, N.J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, **5**, 25-44.
- Munck, A. & Naray-Fejes-Toth, A. (1994). Glucocorticoids and stress: permissive and suppressive actions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **746**, 115-130.

- Murray, D.R., Irwin, M., Reardon, A., Ziegler, M.G., Hauger, R., Nelesen, R.A. & Brown, M. (1993). Sympathetic and immune interactions during dynamic exercise: Mediation via a β 2-adrenergic dependent mechanism. *Circulation*, **86**, 203-213.
- Ninova, D., Krom, R.A. & Wiesner, R.H. (1995). Hepatic allgraft rejection is associated with increased levels of soluble intercellular adhesion molecule - 1. *Liver Transplantation and Surgery*, **1**, 290-295.
- Ottaway, C.A. (1988). Recognition of vasoactive intestinal peptide by murine T cells. In R. MacDermott (Ed.), *Inflammatory bowel disease: Future approaches*. (pp. 31-35). Amsterdam: Elsevier.
- Pabst, R. & Binns, R.M. (1989). Heterogeneity of lymphocyte homing physiology: Several mechanisms operate in the control of migration to lymphoid and non-lymphoid organs (in vivo). *Immunological Reviews*, **108**, 83-109.
- Pabst, R., Binns, R.M., Peter, M. & Licence, S.T. (1988). The physiological role of the lung in lymphocyte migration. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **237**, 553-558.
- Parker, C.W., Huber, M.G. & Baumann, M.L. (1973). Alterations of the cyclic AMP metabolism in human bronchial asthma. III. Leukocyte and lymphocyte response to steroids. *Journal of Clinical Investigation*, **52**, 1342-1348.
- Payan, D.G., Brewster, D.R. & Goetzel, E.J. (1984). Stereo-specific receptors for substance P on cultured human IM-9 lymphoblasts. *Journal of Immunology*, **133**, 3260-3265.
- Payan, D.G., Brewster, D.R., Missirlian-Bastian, A. & Goetzel, E.J. (1984). Substance P recognition by a subset of human T-lymphocytes. *Journal of Clinical Investigation*, **74**, 1532-1539.
- Peterson, A.P., Altman, L.C., Hill, J.S., Gosney, K. & Kadin, M.E. (1981). Glucocorticoid receptors in normal human eosinophils: Comparison with neutrophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **62**, 212-217.
- Pober, J.S., Lapierre, L.A., Stolpen, A.H., Brock, T.A., Springer, T.A., Fiers, W., Bevilacqua, M.P. & Gimbrone, M.A. (1987). Activation of cultured human endothelial cells by recombinant lymphotoxin: comparison with tumor necrosis factor and interleukin 1. *Journal of Immunology*, **138**, 3319-3324.

- Rannie, G.H. & Donald, K.J. (1977). The migration of thoracic duct lymphocytes to non-lymphoid tissues. A comparison of the distribution of radioactivity at intervals following i.v. transfusion of cells labelled with ^3H , ^{14}C , ^{75}Se , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{125}I and ^{51}Cr in the rat. *Cell and Tissue Kinetics*, **10**, 523-541.
- Redwine, L., Jenkins, F. & Baum, A. (1996). Relation between beta-adrenergic receptor density and lymphocyte proliferation associated with acute stress. *International Journal of Behavioral Medicine*, **3**, 337-353.
- Rehman, J., Mills, P.J., Carter, S.M., Chou, J., Thomas, J. & Maisel, A.S. (1997). Dynamic exercise leads to an increase in circulating ICAM-1: Further evidence for adrenergic modulation for cell adhesion. *Brain, Behavior, and Immunity*, **11**, 343-351.
- Richardson, G.S. & Martin, J.B. (1988). Circadian rhythms in neuroendocrinology and immunology: influence of aging. *Progress in Neuroendocrine-Immunology*, **1**, 16-20.
- Ritchie, G.S., Oswald, I., Micklem, H.S., Boyd, J.E., Elton, R.A., Jazwinska, E. & James, K. (1983). Circadian variation of lymphocyte subpopulations : a study with monoclonal antibodies. *British Medical Journal*, **286**, 1773-1775.
- Rock, C.S., Coyle, S.M. & Keogh, C.V., Lazarus, D.D., Hawes, A.S., Leskiw, M., Moldawer, L.L., Stein, T.P. & Lowry, S.F. (1992). Influence of hypercortisolemia on the acute-phase protein response to endotoxin in humans. *Surgery*, **112**, 467-474.
- Rose, R.M. & Hurst, M.W. (1975). Plasma cortisol and growth hormone responses to intravenous catheterization. *Journal of Human Stress*, **1**, 22-36.
- Ruff, M.R., Wahl, S.M. & Pert, C.B. (1985). Substance P receptor mediated chemotaxis of human monocytes. *Peptides*, **6**, 107-111.
- Sacerdote, P., Ruff, M.R. & Pert, C.B. (1988). IL-12 is a ligand for the CD4/human immunodeficiency virus receptor. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **427**, 574-578.
- Schedlowski, M., Hosch, W., Oberbeck, R., Benschop, R.J., Jacobs, R., Raab, H.-R. & Schmidt, R.E. (1996). Catecholamines modulate human natural killer (NK) cell circulation and function via spleen-independent β_2 -adrenergic mechanisms. *Journal of Immunology*, **156**, 93-99.
- Schedlowski, M. & Tewes, U. (1996). *Psychoneuroimmunologie*. Heidelberg: Spektrum.

- Schmitt-Ott, G., Jacobs, R., Jäger, B., Klages, S., Wolf, J., Werfel, T., Kapp, A., Schürmeyer, T., Lamprecht, F., Schmidt, R.E. & Schedlowski, M. (1998). Stress - induced endocrine and immunological changes in psoriasis patients and healthy controls. A preliminary study. *Psychotherapie und Psychosomatik*, **67**, 37-42.
- Selye, H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *The Journal of Clinical Endocrinology*, **6**, 117-231.
- Sgoutas-Emch, S.A., Cacioppo, J.T., Uchino, B.N., Malarkey, W., Pearl, D., Kiecolt-Glaser, J.K. & Glaser, R. (1994). The effects of an acute psychological stressor on cardiovascular, endocrine, and cellular immune response: A prospective study of individuals high and low in heart rate reactivity. *Psychophysiology*, **31**, 264-271.
- Sheps, D.S., Ballenger, M.N., De Gent, G.E., Kittayaphong, R., Dittman, E., Maixner, W., McCartney, W., Golden, R.N., Koch, G. & Light, K.C. (1995). Psychophysical responses to a speech stressor: correlation of plasma beta-endorphin levels at rest and after psychological stress with thermally measured pain threshold in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, **25**, 1499-1503.
- Shiota, Y., Wilson, J.G., Marukawa, M., Ono, T. & Kaji, M. (1996). Soluble intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) antigen in sera of bronchial asthmatics. *Chest*, **109**, 94-96.
- Smith, M.E. & Ford, W.L. (1983). The recirculating lymphocyte pool of the rat: a systematic description of the migratory behaviour of recirculating lymphocytes. *Immunology*, **49**, 83-94.
- Smith, M.E., Martin, A.F. & Ford, W.L. (1980). Migration of lymphoblasts in the rat. Preferential localization of DNA-synthesizing lymphocytes in particular lymph nodes and other sites. *Allergy*, **16**, 203-232.
- Snow, C. (1985). Insulin and growth hormone function as minor growth factors that potential lymphocyte activation. *Journal of Immunology*, **135**, 776-778.
- Spry, C.J.F. (1972). Inhibition of lymphocyte recirculation by stress and corticotropin. *Cellular Immunology*, **4**, 86
- Stein, M.B., Walker, J.R. & Forde, D.R. (1996). Public -speaking fear in a community sample. Prevalence, impact on functioning, and diagnostic classification. *Archives of General Psychiatry*, **53**, 169-174.

- Stevens, S.K., Weissman, I.L. & Butcher, E.C. (1982). Differences in the migration of B and T lymphocytes: organ-selective localization in vivo and the role of lymphocyte-endothelial cell recognition. *Journal of Immunology*, **128**, 844-851.
- Stolpen, A.H., Guinan, E., Fiers, W. & Pober, J.S. (1986). Recombinant tumor necrosis factor and immune interferon act singly and in combination to reorganize human vascular endothelial cell monolayers. *American Journal of Pathology*, **123**, 16-24.
- Sung, C., Arieth, A., Storer, B. & Feuerstein, G. (1991). Modulation of U937 cell adhesion to vascular endothelial cells by cyclic AMP. *Life Sciences*, **49**, 375-382.
- Taggart, P., Carruthers, M. & Sommerville, W. (1973). Electrocardiograms, plasma catecholamines, and lipids and their modification by oxprenolol when speaking before an audience. *Lancet*, **18**, 341-346.
- Taylor, A., Das, A.M., Getting, S.J., Flower, R.J. & Peretti, M. (1997). Subacute treatment of rats with dexamethasone reduces ICAM-1 levels on circulating monocytes. *Biochemical and Biophysics Research Community*, **23**, 675-678.
- Tessier, P.A., Cattaruzzi, P. & McColl, S.R. (1996). Inhibition of lymphocyte adhesion to cytokine - activated synovial fibroblasts by glucocorticoids involves attenuation of vascular adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1 gene expression. *Arthritis and Rheumatism*, **39**, 226-234.
- Thompson, J. & Van Furth, R. (1970). The effect of glucocorticoids on the kinetics of mononuclear phagocytes. *Journal of Experimental Medicine*, **131**, 429-442.
- Trinchieri, G. (1989). Biology of natural killer cells. *Advances in Immunology*, **47**, 187-376.
- Uchino, B.N., Cacioppo, J.T., Malarkey, W. & Glaser, R. (1995). Individual differences in cardiac sympathetic control predict endocrine and immune responses to acute psychological stress. *Journal of Personality and Social Psychology*, **69**, 736-743.
- van de Stolpe, A. & van der Saag, P.T. (1996). Intercellular adhesion molecule 1. *Journal of Molecular Medicine*, **74**, 13-33.

- van Tits, L.J.H., Michel, M.C., Grosse-Wilde, H., Happel, M., Eigler, F.W., Soliman, A. & Brodde, O.E. (1990). Catecholamines increase lymphocyte β 2-adrenergic receptors via β 2-adrenergic, spleen dependent process. *American Journal of Physiology*, **258**, 191-202.
- Vishwanath, R. & Mukherjee, R. (1996). Substance P promotes lymphocyte-endothelial cell adhesion preferentially via LFA-1 / ICAM-1 interactions. *Journal of Neuroimmunology*, **71**, 163-171.
- Voigt, K.-H. (1994). New aspects understanding the stress response. In R. Denhard (Ed.), *Endocrinology in Anesthesia and Critical Care Medicine*. Berlin: Springer.
- Ward, M.M., Mefford, I.N., Parker, S.D., Chesney, M.A., Taylor, C.B., Keegan, D.L. & Barchas, J.D. (1983). Epinephrine and norepinephrine responses in continuously collected human plasma to a series of stressors. *Psychosomatic Medicine*, **45**, 471-486.
- Wawryk, S.O., Novotny, J.R., Wicks, I.P., Wilkinson, D., Maher, D., Salvaris, E., Welch, K., Fecondo, J. & Boyd, A.W. (1989). The Role of the LFA-1 / ICAM-1 Interaction in Human Leukocyte Homing and Adhesion. *Immunological Reviews*, **108**, 135-161.
- Weisz-Carrington, P., Roux, M.E., McWilliams, M., Phillips-Quagliata, J.M. & Lamm, M.E. (1978). Hormonal induction of the secretory immune system in the mammary gland (lymphocyte homing/ IgA/lactation/ gut-associated lymphoid tissue). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **75**, 2928-2932.
- Werb, Z., Foley, R. & Munck, A. (1978). Interaction of glucocorticoids with macrophages. Identification of glucocorticoid receptors in monocytes and macrophages. *Journal of Experimental Medicine*, **147**, 1684
- Westermann, J., Willführ, K.U., Rothkötter, H.J., Fritz, F.J. & Pabst, R. (1989). Migration pattern of lymphocyte subsets in the normal rat and the influence of splenic tissue. *Scandinavian Journal of Immunology*, **29**, 193-201.
- Wiegers, J.G. & Reul, J.M.H.M. (1998). Induction of cytokine receptors by glucocorticoids: functional and pathological significance. *Trends in Pharmacological Sciences*, **19**, 317-321.
- Wilckens, T. (1995). Glucocorticoids and immune function: physiological relevance and pathogenic potential of hormonal dysfunction. *Trends in Pharmacological Sciences*, **16**, 193-197.

Yednock, T.A. & Rosen, S.D. (1989). Lymphocyte Homing. *Advances in Immunology*, **44**, 313-378.

Anhang

1. Fragebogen zum Gesundheitsstatus (1. Seite)

Allgemeiner Gesundheitsfragebogen		JA	NEIN
1.	Allergische Reaktionen Wenn ja, welche ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.	Asthma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.	Erhöhter Blutdruck	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4.	Kreislaufstörungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.	Kopfschmerzen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.	Leberkrankheiten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.	Nierenkrankheiten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.	Harnwegserkrankungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.	Diabetes (Zucker)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10.	Schilddrüsenunterfunktion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11.	Schilddrüsenüberfunktion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12.	Andere hormonbedingte Erkrankungen Wenn ja, welche ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13.	Neurologische Erkrankungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14.	Anfallsleiden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15.	Sonstiges Wenn ja, was ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16.	Nehmen Sie zur Zeit Medikamente ein ? Wenn ja, welche ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1. Fragebogen zum Gesundheitsstatus (2. Seite)

	JA	NEIN		
17. Nehmen Sie zur Zeit Hormonpräparate ein ? Wenn ja, welche ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
18. Waren Sie innerhalb des letzten Jahren im Krankenhaus oder ärztlicher Behandlung ? Wenn ja, warum ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
19. Waren Sie je oder sind Sie zur Zeit in psychiatrischer oder psychotherapeutischer Behandlung ? Wenn ja, warum ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
20. Rauchen Sie ? Wenn ja, was und wie viel ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
21. Nehmen Sie alkoholische Getränke zu sich ?				
	nie	selten	häufig	regelmäßig
Bier	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wein	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
hochprozentig (Whisky, Schnaps Gin, Likör etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Informationen zum Versuch (Seite 1)

Information zum Versuch

Zunächst einmal möchten wir uns bedanken, dass Sie sich bereit erklären, an unserem Versuch teilzunehmen. Sie erhalten dafür von uns eine wohlverdiente Prämie von 100 DM.

Wir möchten Sie nun bitten, den folgenden Text in Ruhe zu lesen; er wird Ihnen aufzeigen, wie der Versuch gestaltet ist und Sie über alle Details informieren. Selbstverständlich können Sie zu jedem Zeitpunkt Fragen stellen.

In diesem Versuch geht es allgemein um die Frage, wie sich psychologische Belastungssituationen auf körperliche Reaktionen und Befinden auswirken und welche Mechanismen diesen Reaktionen zugrunde liegen.

Um dies zu messen, erheben wir auf verschiedenen Ebenen:

- situative Befindlichkeit
- allgemeines (Gesundheits-) Verhalten
- körperliche Reaktionen (z.B. Hormonveränderungen)

Der Versuch läuft folgendermaßen ab:

Sie werden gebeten, am Untersuchungstag um 16.25 Uhr ins Psychologische Institut, Otto-Behagel-Straße 10 in den 5. Stock Raum 511 zu kommen.

An diesem Untersuchungstag wird Ihnen zunächst eine venöse Verweilkannüle gelegt, da wir zu 5 verschiedenen Zeitpunkten Blutproben erheben werden. Des weiteren werden Sie gebeten, Fragebögen zur Befindlichkeit, zur Gesundheit und zu allgemeinen Verhaltensweisen auszufüllen.

Der Versuch beginnt um 16.30 Uhr und endet etwa um 18.20 Uhr, d.h. Sie müssen für diesen Versuchstag etwa 2 Stunden Zeit einkalkulieren.

Wichtig ist die Vorbereitung auf den Versuch. Sie werden gebeten am Vorabend des Versuchs um 22.00 Uhr eine Substanz einzunehmen. Dies können Sie zuhause tun. Damit Sie das nicht vergessen, werden wir Sie genau um diese Zeit zuhause anrufen.

Diese Substanz heißt DEXAMETHASON und wird zur Diagnostik der Hormonfunktion in der Endokrinologie eingesetzt. DEXAMETHASON ist im Prinzip ein synthetisches Hormon, welches in der einmaligen Gabe (so wie wir es verabreichen) keine bewusst wahrnehmbaren Nebenwirkungen aufweist. Sie werden von der Einnahme keine Wirkungen spüren. Mit dieser Substanz gibt es bereits zahlreiche Versuche in verschiedenen Kliniken und Instituten und auch in unserer Gruppe und daher können wir aus „eigener Quelle“ sagen, dass sich weder kurzfristig noch langfristig irgendwelche aversiven Nebenwirkungen mit dieser Verabreichung von DEXAMETHASON verbunden haben.

2. Informationen zum Versuch (Seite 2)

von DEXAMETHASON verbunden haben.

Wichtig ist jedoch, dass DEXAMETHASON die körpereigene Hormonproduktion, genauer die des Cortisols, kurzfristig (für ca. 24 Std.) reduziert. Sicher ist nun, dass nur die Hälfte aller Probanden tatsächlich DEXAMETHASON erhält, während die andere Hälfte am Vorabend ein Placebo verabreicht bekommt.

Damit wir feststellen können, ob DEXAMETHASON gewirkt hat, sollen Sie am Morgen des Versuchstages in der Zeit zwischen 8.00 Uhr und 10.00 Uhr zwei Speichelproben von sich entnehmen. Die 1. Probe entnehmen Sie 10 Minuten nach dem Aufstehen (bitte Aufstehzeit notieren!), die 2. Probe entnehmen Sie 30 Minuten nach dem Aufstehen. Dafür bekommen Sie von uns zwei sogenannte „Salivetten“ mit nach Hause. Sie brauchen einfach nur den Verschluss abnehmen und führen das Röhrchen so zum Mund, dass der Wattebausch in den Mundinnenraum gleitet. Diesen lassen Sie dort für kurze Zeit verweilen. Sie können ihn ruhig hin und her bewegen, so dass er sich mit Speichel vollsaugt. Wichtig ist nur, dass Sie nicht darauf beißen! Wenn Sie den Eindruck haben er hat sich vollgesaugt (nach 2 bis 3 Minuten), lassen Sie den Wattebausch einfach wieder in das Röhrchen gleiten. Sie verschließen dieses wieder und tragen die genaue Uhrzeit auf dem Schriftzug des Röhrchens ein. Diesen Vorgang wiederholen Sie dann in 20 Minuten, also insgesamt 30 Minuten nach dem Aufstehen, mit dem zweiten Röhrchen. Die beiden „Salivetten“ mit den Speichelproben bringen Sie zum Versuch wieder mit (nicht vergessen!).

Da der Versuch nicht unterbrochen werden darf, sollten Sie vorher ausreichend essen und trinken. Die letzte Mahlzeit muß aber vor 14.30 Uhr sein! Sie sollten vor dem Versuch außerdem nochmal die Toilette aufsuchen.

Während des Versuchs wird es auch Phasen geben in denen Sie längere Zeit nichts zu tun haben werden. Aus diesem Grund können Sie sich etwas zu lesen mitbringen.

Am Ende des Versuchs bekommen Sie zwei Fragebögen ausgehändigt, die Sie bitte erst zu Hause bearbeiten. Diese geben Sie möglichst schnell ausgefüllt entweder im Psychologischen Institut, Otto-Behaghel-Straße 10 im Sekretariat im 1. Stock (Frau Grünfelder, Raum 137) zwischen 10.00 Uhr und 12.00 Uhr ab oder schicken sie per Post (Freiumschlag erhalten Sie von uns). Wenn die Fragebögen bei uns abgegeben bzw. eingetroffen sind haben Sie ihre Aufgabe erledigt und Sie bekommen den Betrag, von DM 100 DM ausgehändigt bzw. auf ihr Konto überwiesen (Kontonummer für diesen Fall noch angeben).

Noch eine Anmerkung:

Sie können sich sicherlich vorstellen, dass wir ganz sicher gehen müssen, dass Sie die Einnahme der Substanz am Vorabend auch wirklich nicht vergessen haben. Aus diesem Grund werden wir aus den Blutproben des Hauptversuchs den DEXAMETHASON - Plasmaspiegel bestimmen. Sollte die Substanz nicht nachweisbar sein, können wir leider nicht das Honorar an Sie auszahlen. Sie werden das verstehen; deshalb ja auch der Anruf von uns am Vorabend.

Haben Sie noch Fragen?'

3. Instruktionen im Hauptversuch

a) Allgemeine Instruktion

I. Instruktion

In der vor Dir liegenden Mappe sind verschiedene Fragebögen enthalten. Wenn Du zur Fragebogenbearbeitung aufgefordert wirst, dann lies Dir bitte die den Fragebögen beige-fügten Anweisungen durch und bearbeite die Fragebögen bis zu dem nächsten Stoppblatt. Manche Fragebögen sind auch auf der Rückseite beschriftet, daher kontrolliere bitte genau ob Du auch alle Fragen beantwortet hast. Bitte achte darauf, daß sich die Fragebögen auf Dein Befinden im Augenblick beziehen und nicht darauf, wie Du dich im allgemeinen fühlst.

Während jedes Fragebogenkomplexes wird die Temperatur im Ohr gemessen und gleichzeitig eine Speichelprobe genommen. Der Wattebausch im Röhrchen darf nicht direkt mit den Fingern berührt werden, sondern sollte aus dem Röhrchen in den Mund geschüttet werden und nach guter Durchfeuchtung (ca. 3 Min.) sollte der Wattebausch mit der Zunge direkt wieder in das Röhrchen geschoben werden.

3. Instruktionen im Hauptversuch

b) Instruktion vor der Antizipationsphase

II. Instruktion

Du hast nun 10 Minuten Zeit, Dich auf das eigentliche Experiment vorzubereiten. Danach sollst Du über ein Thema referieren, das Dir noch mitgeteilt wird. Für diese Rede wirst Du exakt fünf Minuten Zeit haben. Du wirst von einer zusätzlichen Kamera gefilmt werden und Deine Rede wird in einen Nebenraum übertragen werden, die dort von Psychologen nach inhaltlichen und formalen Kriterien beurteilt werden wird. Ein direktes Sprechen vor den Beurteilern soll aus Standardisierungs- und Objektivitätsgründen vermieden werden, um direkte Interaktionen zu vermeiden.

Die Wartezeit darfst Du durch die vor Dir liegenden Zeitschriften etc. verkürzen.

3. Instruktionen im Hauptversuch

c) Instruktion vor der Redephase

III. Instruktion

Stell Dir bitte vor, Du bist in einem Bewerbungsgespräch für einen Job, der Dich sehr interessiert, nämlich ... und sitzt dem fünfköpfigen Gremium gegenüber, das Du gleich auf dem Bildschirm sehen wirst. Deine Aufgabe besteht nun darin, etwas über Deinen Lebenslauf, Dich selbst und Deine besonderen Fähigkeiten und Qualitäten mitzuteilen, um das Gremium zu überzeugen, der geeignete Bewerber für die ausgeschriebene Position zu sein. Sprich bitte laut und deutlich und schau dabei in die große Kamera.

Du hast exakt fünf Minuten Zeit, danach wird Deine Rede, falls Du noch nicht fertig sein solltest, abgebrochen. Falls Du früher fertig sein solltest, fasse das schon Gesagte noch einmal zusammen, damit die Schwerpunkte Deiner Rede deutlich werden, bis die fünf Minuten vorbei sind.

Die überzeugendsten Darstellungen werden auf Gemeinsamkeiten hin untersucht, damit daraus ein Bewerbertraining konzipiert werden kann.

Hast du noch Fragen? Wenn nicht, kannst Du beginnen, sobald der Versuchsleiter Dir ein Startzeichen gibt .

Viel Spaß!

4. Fragebogen zur momentanen Befindlichkeit

Beschreiben Sie bitte anhand der folgenden Begriffe, wie Sie sich augenblicklich fühlen.
Entscheiden Sie bei jedem Begriff, in welchem Ausmaß er Ihrem **augenblicklichen** Befinden entspricht.
Kreuzen Sie bitte diejenige Zahl an, die für Sie zutrifft.

1. Gefühl der inneren Erregtheit (z.B. aufgeregt, erregt)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
2. Gefühl der Aktivität (z.B. aktiv, tatkräftig)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
3. Gefühl des seelischen Wohlbefindens (z.B. angenehm, zufrieden)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
4. Gefühl der Energielosigkeit (z.B. träge, lahm)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
5. Gefühl der inneren Entspannung (z.B. gelöst, entspannt)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
6. Gefühl der Mißstimmung (z.B. mißgestimmt, übellaulig)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
7. Gefühl der Wachheit (z.B. aufmerksam, wachsam)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
8. Gefühl des Ärgers (z.B. ärgerlich, gereizt).						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
9. Gefühl der Benommenheit (z.B. benommen, dösig)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr
10. Gefühl der gehobenen Stimmung (z.B. gutgelaunt, heiter).						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
11. Gefühl des körperlichen Unwohlseins (z.B. Übelkeit, Schwindel)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
12. Gefühl der Angst (z.B. ängstlich, angsterfüllt)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark
13. Gefühl der Mundtrockenheit (z.B. kaum Speichelfluß)						
0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

5. Einverständniserklärung des Probanden (Seite 1)

EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

Ich habe die Informationen zum Versuch gelesen und verstanden. Etwaige Rückfragen sind von den Untersuchungsleitern zu meiner Zufriedenheit beantwortet worden.

Ich erkläre mich bereit, an der geschilderten Untersuchung teilzunehmen und verpflichte mich, zum vereinbarten Termin im Psychologischen Institut zu erscheinen, es sei denn, dass zwingende Gründe eine Verschiebung des Versuches unvermeidbar machen. In diesem Fall, werde ich rechtzeitig (mind. 2 Tage vor Hauptversuch) unter einer der folgenden Telefonnummern Bescheid geben um einen neuen Termin zu vereinbaren:

- 1) 0641 702 5426 oder5427 (Frau Prof. Netter / Herr Dr. Hennig)
- 2) 06183 72183 Karsten
- 3) 06442 24341 Marcel
- 4) 0641 36898 Annette

Neben der Wahrnehmung der Untersuchung im psychologischen Institut, erkläre ich mich ferner bereit, an dem Vorabend der Hauptuntersuchung nach Anruf der Versuchsleiter um 22.00 Uhr eine Kapsel (entweder Placebo oder DEXAMETHASON) einzunehmen und ferner am nächsten Morgen nach dem Wachwerden und 30 Minuten später eine Speichelprobe zu Hause zu erheben. Mir ist die Technik bekannt, die Röhrchen werden mir mitgegeben.

Ich erkläre mich auch damit einverstanden, dass an dem Hauptversuch 5x je 20 ml Blut entnommen werden, dass Fragebögen auszufüllen sind und dass insgesamt je 6 Speichelproben entnommen werden.

Des weiteren bin ich damit einverstanden, daß einige Abschnitte des Versuches mit einer Kamera aufgezeichnet werden.

5. Einverständniserklärung des Probanden (Seite 2)

Ich gewährleiste

an dem Untersuchungstag um **16.30** pünktlich im Psychologischen Institut, Otto-Behagelstr. 10, **RAUM 511** einzutreffen.

an dem Untersuchungstag und dem jeweiligen Vortag keine anderen als die von den Untersuchungsleitern gegebenen Medikamente einzunehmen und keine Schokolade oder kakaohaltigen Speisen und Getränke, Nüsse oder Bananen zu mir zu nehmen.

am Vorabend der Hauptuntersuchung die Kapsel um **22.00** (nach Anruf der Versuchsleiter) einzunehmen und danach bzw. vor 24.00 Uhr schlafen zu gehen.

am Morgen des Untersuchungstages die beiden Speichelproben abzunehmen (eine 10 Minuten nach dem Aufwachen [Zeit notieren !!] und eine weitere 30 Minuten nach dem Aufwachen [Zeit notieren])

am Versuchstag nach 14.30 Uhr nichts mehr zu essen

psychische und körperliche Begleiterscheinungen vor, während und nach dem Versuch bzw. seinen Teilen unmittelbar den Untersuchungsleitern mitzuteilen

Ich habe die Fragen im Gesundheitsfragebogen sowie alle anderen wahrheitsgemäß und gewissenhaft beantwortet und habe keine weiteren Fragen an die Versuchsleiter. Mir ist gesagt worden, dass ich den Versuch abbrechen kann.

Gießen, den _____

(Unterschrift)

1.6 Stellungnahme der Ethikkommission der Deutschen Gesellschaft für Psychologie (DGPs)

UNIVERSITÄT HOHENHEIM

Lehrstuhl für Psychologie
Prof. Dr. Heinz Schuler
Institut für Sozialwissenschaften

Der Vorsitzende der Ethikkommission der DGPs

Universität Hohenheim (540 F), 70593 Stuttgart

Frau
Prof. Dr. Dr. P. Netter
FB Psychologie
Justus-Liebig-Universität Gießen
Otto-Behaghel-Str. 10

35394 Gießen



Telefon (0711) 4 59 - 26 54
Telefax (0711) 4 59 - 37 46
hf - 19.11.96

Stellungnahme der Ethikkommission der Deutschen Gesellschaft für Psychologie zum Forschungsantrag „Die Rolle der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse bei der immunologischen Reaktion auf psychischen Streß“ von Dr. rer. nat. Jürgen Henning, Dipl.-Psych. Sonja Huwe, Prof. Dr. Dr. Petra Netter

Sehr geehrte Frau Kollegin Netter,

die in Ihrer Arbeitsgruppe geplante Untersuchung sieht ein Streßexperiment in Form eines bereits erprobten Paradigmas vor. Die vorgesehene Medikation mit Dexamethason, Blut- und Speichelentnahme, Belastung durch eine kurze Rede innerhalb eines fingierten Bewerbungsgesprächs sowie die Fingiertheit des Publikums erscheinen zur Durchführung des Versuchs erforderlich und angesichts der Bedeutung der Fragestellung vertretbar. Für die vorexperimentelle Information und nachexperimentelle Aufklärung der Versuchsteilnehmer ist gesorgt, desgleichen für die medizinische Betreuung während der Untersuchung.

Die Kommission geht davon aus, daß die Probanden bei unklarer Anamnese (Gesundheitsfragebogen zum Ausschluß bestimmter Risikogruppen) bezüglich einer Allergie, weiterer endokrinologischer bzw. Herz-Kreislauf-Erkrankungen vom Versuch ausgeschlossen werden. Nicht selbstverständlich kann davon ausgegangen werden, daß alle Probanden mögliche Krankheitsereignisse oder Symptome hier eindeutig zuordnen. Daher sollten die Versuchsleiter im Zweifelsfall einem Probanden von der Teilnahme abraten.

Für die Durchführung der Untersuchung darf ich Ihnen und Ihrer Arbeitsgruppe im Namen der Ethikkommission viel Erfolg wünschen.

Mit freundlichen Grüßen

H. Schuler

Besucher-/Lieferadresse: 70599 Stuttgart (Hohenheim), Schloß-Museumsflügel, Geb. 04/15, 1. OG, Zi. 129
Mailing address: Department of Psychology (540 F), University of Hohenheim, D-70593 Stuttgart, Germany